

**BEEINFLUSSUNG DER AKTIVITÄT
RETINALER GANGLIENZELLEN DER KATZE
DURCH AMINOSÄUREN UND BIOGENE AMINE**

Joachim Perwein

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0038

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München

Vorstand: Prof. Dr. med. G. Peters

Prof. Dr. med. D. Ploog

BEEINFLUSSUNG DER AKTIVITÄT RETINALER GANGLIENZELLEN
DER KATZE DURCH AMINOSÄUREN UND BIOGENE AMINE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Joachim Perwein

aus

Stupperhof

1974



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. O. Creutzfeldt
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. K. Kramer
Dekan:	Prof. Dr. med. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	9.7.1974

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

I.	<u>EINLEITUNG</u>	1
II.	<u>METHODEN</u>	8
1.	Systemische Applikation von L-Dopa	8
2.	Iontophoretische Applikation von Aminosäuren und biogenen Aminen	10
III.	<u>ERGEBNISSE</u>	15
1.	Wirkung von Aminosäuren	15
1.1	Glutamat	15
1.2	GABA	16
2.	Wirkung von biogenen Aminen	18
2.1	Dopamin (DA)	18
2.1.1	Wirkung von DA auf einzelne retinale Ganglienzellen	18
2.1.2	Wirkung von L-Dopa auf die visuelle Reizantwort von Tractus-Opticus-Fasern	19
2.1.3	Aufklärung des Wirkungsmechanismus	21
2.2	Wirkung von Noradrenalin (NA)	23
2.3	Wirkung von D-Amphetamin	24
2.4	Wirkung von Serotonin (5-HT)	24
2.5	Wirkungsvergleiche zwischen GABA, 5-HT und DA bzw. NA	26
2.6	Acetylcholin	27
IV.	<u>DISKUSSION</u>	33
1.	Aminosäuren	33
2.	Biogene Amine	37
2.1	Catecholamine und D-Amphetamin	37
2.2	Serotonin	41
2.3	Acetylcholin	45
3.	Schlussfolgerungen	50
V.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	51
VI.	<u>ABBILDUNGEN und TABELLEN</u>	53
VII.	<u>LITERATUR</u>	74

I. EINLEITUNG

Die Wirkung systemisch applizierter Substanzen auf die retinale Aktivität wurde bereits von mehreren Autoren untersucht (HEISS 1967; HEISS u.a. 1969; STRASCHILL 1968). Auch an der isolierten Retina wurden neuropharmakologische Untersuchungen durchgeführt (AMES und POLLEN 1969). Mit diesen Methoden konnten wichtige Ansätze zur Identifizierung von Überträgersubstanzen gemacht werden. Sie haben jedoch den Nachteil, dass der Wirkungsort des jeweils getesteten Pharmakons schwer zu bestimmen ist; denn zum einen bildet die Blut-Retina-Schranke - ebenso wie die Blut-Hirn-Schranke - für einige dieser Substanzen eine Barriere (WEIL-MALHERBE u.a. 1959), die nur durch hohe Dosen überwunden werden kann. Hierdurch können jedoch Nebenwirkungen auf den Kreislauf verursacht werden; zum anderen können die an Ganglienzellen oder am N. opticus beobachteten Aktivitätsänderungen auch auf einer Beeinflussung der distal gelegenen Strukturen beruhen.

Demgegenüber ermöglicht es die Methodik der Mikroelektrophorese, kleinste Mengen pharmakologisch wirksamer Substanzen in unmittelbare Nähe einzelner Nervenzellen zu applizieren und gleichzeitig deren elektrische Signale zu registrieren. Diese Technik war ursprünglich von NASTUK (1953) und DEL CASTILLO und KATZ (1955, 1957) für Untersuchungen an der isolierten Muskelendplatte entwickelt worden. Von CURTIS und ECCLES (1958) wurde sie auf das Zentralnervensystem übertragen, wo sie seitdem in vielen Regionen angewendet wurde (SAL-

MOIRAGHI und STEFANIS 1967; BRADLEY 1968; CURTIS und CRAWFORD 1969; HEBB 1970). In der Retina wurden bisher nur Aminosäuren elektrophoretisch getestet (NOELL und LASANSKY 1959).

Vorbemerkungen zur Anatomie und Physiologie der Retina

Für experimentelle Untersuchungen ist die Netzhaut, die entwicklungsgeschichtlich ektodermaler Herkunft ist, durch ihre - im Vergleich zu anderen Gehirnabschnitten - relativ einfache Struktur, ihre leichte Zugänglichkeit und gute Stimulierbarkeit besonders gut geeignet.

Bereits gegen Ende des 19. Jahrhunderts beschrieb CAJAL (1892) mit Hilfe von GOLGI-Imprägnationen die Zytologie und Histologie der Retina verschiedener Wirbeltiere. Etwa 50 Jahre später führte POLYAK (1941, 1957) auch bei Primaten und am Menschen diese lichtmikroskopischen Untersuchungen durch. Sie liessen einen Schichtenbau erkennen, welcher innerhalb der Wirbeltierreihe keine grundsätzlichen Abweichungen aufwies: Das Pigmentepithel, als äusseres Blatt des Augenbeckers, umschliesst eine 'Gehirnschicht' (inneres Blatt des Augenbeckers), die aus Lagen lichtempfindlicher und erregungsleitender Elemente sowie einem Gliagerüst besteht (BARGMANN 1967); Synapsen sind auf zwei Schichten beschränkt: In der äusseren plexiformen Schicht stehen die Axone der Photorezeptoren (I. Neuron) mit Dendriten von Bipolarzellen (II. Neuron) und Fortsätzen der Horizontalzellen in Verbindung; in der inneren plexiformen Schicht bilden Axone der Bipolarzellen mit Dendriten von Ganglienzellen (III. Neuron) und Ausläufern der amakrinen Zellen synaptische Kontakte.

Die synaptischen Feinstrukturen konnten in neuerer Zeit mit Hilfe der Elektronenoptik weitgehend aufgeklärt werden. In Abb. 1 ist ein sehr vereinfachtes Schema der Wirbeltierretina dargestellt: Sowohl die Rezeptoren als auch die Bipolarzellen sind meist mit jeweils zwei postsynaptischen Elementen verbunden; dies wird durch spezielle Kontaktstrukturen, die 'ribbon-Synapsen' ermöglicht (DOWLING und BOYCOTT 1966). Die Axone der Stäbchen und Zapfen besitzen Invaginationen, in welche ein oder mehrere Bipolardendriten und zwei seitlich angeordnete Horizontalzellen eingelagert sind: 'rod-spherules' sind mit 'amakrinen'-Horizontalzellen und einem oder mehreren 'rod'-Bipolardendriten verbunden (GALLEGO 1971); 'cone-pedicles' enthalten mehrere Invaginationen, in welche 'invaginating'-Bipolardendriten und Ausläufer der 'klassischen'-Horizontalzellen (diese besitzen ein Axon) eingelagert sind (BOYCOTT und KOLB 1973; GALLEGO 1971). Beide synaptischen Komplexe werden nach MISSOTTEN(1965) als Triaden bezeichnet. 'flat'-Bipolare bilden konventionelle, 'oberflächliche' Kontakte mit den Zapfen an der Basis der 'cone-pedicles'. So sind Stäbchen und Zapfen mit separaten Bipolarzellen verbunden. Die beiden postsynaptischen Elemente der Bipolaraxone werden bei der Katze meist aus dem Fortsatz einer amakrinen Zelle und einem Ganglienzelldendriten gebildet, sehr selten jedoch auch aus zwei Amakrinen- oder Ganglienzellen. Diese synaptischen Komplexe wurden von DOWLING und BOYCOTT (1966) Dyaden genannt. Oft bilden die Amakrinen eine Synapse zum Bipolaraxon zurück im Sinne einer lokalen 'feedback'-Schleife. Histologisch können auch Amakrine- und Ganglienzellen in mindestens

zwei Haupttypen unterteilt werden: In 'diffuse' und 'stratified' Zellen (BOYCOTT und DOWLING 1969).

Wenn auch der Aufbau der Netzhaut bei allen Wirbeltieren grundsätzlich gleichartig ist, so bestehen doch auch art-spezifische Unterschiede in der Morphologie und den synap-tischen Verknüpfungen im jeweiligen Stäbchen- und Zapfen-system. Diese anatomischen Eigenschaften ermöglichen die dif-ferenzierten visuellen Leistungen des photopischen und skoto-pischen Sehens, die wegen der verschiedenen ethologischen und ökologischen Lebensbedingungen erforderlich sind. So besitzen z.B. Katzen als nachtaktive Tiere keine 'midget' Bipolar- und Ganglienzellen (SHKOLNIK-YARROS 1971; BOYCOTT und KOLB 1973), welche bei Primaten und beim Menschen eine 1:1-Ver-schaltung zwischen Rezeptoren, Bipolar- und Ganglienzellen und damit ein besseres Auflösungsvermögen (WÄSSLE und CREUTZ-FELDT 1973) und Farberkennen ermöglichen.

Speziesdifferenzen in der inneren plexiformen Schicht korre-lieren nach DUBIN (1970) mit den Eigenschaften der rezeptiven Felder (rF) der Ganglienzellen. Als rezeptives Feld wird im allgemeinen diejenige Fläche definiert, deren Beleuchtung die Aktivität einer Ganglienzelle verändert. Nach dem klassischen Schema von KUFFLER (1953) und WIESEL (1960) besitzen die meisten Ganglienzellen der Katze und der Primaten 'einfache' rezeptive Felder, welche durch eine konzentrische, antago-nistische 'center-surround'-Organisation charakterisiert sind: In der helladaptierten Retina werden die Ganglienzellen durch Belichtung des Feldzentrums entweder erregt und durch Belich-

tung der Feldperipherie gehemmt (on-center- oder B-Neuron) oder umgekehrt (off-center- oder D-Neuron) (JUNG 1964). Zwischen Zentrum und Umfeld liegt ein schmaler Bereich, der durch beide Reize aktiviert wird.

Da der Dendritenbaum vieler Ganglienzellen etwa den gleichen Durchmesser besitzt wie das rF-Zentrum (LEICESTER und STONE 1967), vermuten einige Autoren (DOWLING und BOYCOTT 1966; GAL-LEGO 1965; RODIECK 1965; BROWN und MAJOR 1966; CREUTZFELDT und SAKMAN 1969; CREUTZFELDT u.a. 1970), dass die vertikale Verbindung zwischen Rezeptor-Bipolare-Ganglienzelle für die Zen-trumsreaktion verantwortlich sei, während die horizontalen In-teraktionen in der äusseren und inneren plexiformen Schicht die Umfeldreaktion bestimmen würden.

Im Gegensatz zur Katze ist die spatiotemporale Konfiguration der rezeptiven Felder des Frosches und der Taube häufig 'kom-plex', d.h., diese Ganglienzellen werden am besten durch punkt-, spalt- oder winkelförmige Lichtreize erregt, welche sich in einer bestimmten Richtung über das rezeptive Feld bewegen (MATURANA und FRENK 1963).

In Netzhäuten von Kaninchen, Erdhörnchen und Furchenmolchen sind beide rF-Typen gleichermassen repräsentiert (DOWLING und WERBLIN 1969, 1971).

Vergleichende morphologisch-funktionelle Untersuchungen ergaben, dass bei Tieren mit 'einfacher' rF-Organisation (Katzen und Affen) weitaus mehr direkte Bipolar-Ganglienzell-Kontakte vor-kommen, wobei die postsynaptischen Elemente der Dyaden meist aus einer Amakrinen- und einer Ganglienzelle bestehen;

dagegen sind signifikant weniger konventionelle und Serien-synapsen der amakrinen Zellen vorhanden als bei Tieren mit 'komplexer' rF-Struktur (DOWLING und WERBLIN 1969; DUBIN 1970).

Während die synaptische Organisation elektronenoptisch bei vielen Vertebraten erforscht worden ist, gelangen intrazelluläre Ableitungen von allen retinalen Zelltypen bisher nur beim Furchenmolch (*Necturus maculosus*), denn diese Amphibienart besitzt besonders grosse Zellkörper. WERBLIN und DOWLING (1969) konnten zeigen, dass kleine Lichtreize bei den distal gelegenen Neuronen - Rezeptoren, Horizontal- und Bipolarzellen - langsame, intensitätsabhängige Potentiale hervorrufen. Rezeptoren und Horizontalzellen reagierten immer mit einer Hyperpolarisation, dagegen wurden Bipolarzellen entweder hyper- oder depolarisiert. Diese Zellen besitzen auch bereits eine antagonistische Zentrum-Umfeld-Organisation ihrer rezeptiven Felder.

Die Neurone in der proximalen Retina - Amakrine- und Ganglienzellen - antworten auf Belichtung mit kurzzeitigen Depolarisationen, wobei nach Erreichen einer Schwelle Aktionspotentiale ausgelöst werden. Der optimale Reiz für die Amakrinen ist entweder ein rasches Ansteigen oder Absinken der Beleuchtungsintensität. Ganglienzellen zeigen teils tonische Potentialänderungen (wie Bipolare) oder phasische Reaktionen (wie Amakrine). Um die Empfindlichkeitsverteilung innerhalb der rezeptiven Felder der Ganglienzellen zu erklären, wurde folgendes Modell entwickelt (RODIECK 1965; GRÜSSER 1971; ENROTH-

CUGELL und PINTO 1970): Es wird angenommen, dass ein Lichtreiz innerhalb des rezeptiven Feldes sowohl Erregung wie Hemmung erzeugt, die in der Mitte der konzentrischen Felder jeweils am stärksten ist und nach einer Gauss-Funktion zur Peripherie hin abfällt (Abb. 2). Der Zentrum-Mechanismus ist durch eine viel kleinere Standardabweichung charakterisiert als der Peripherie-Mechanismus, welcher dadurch jedoch als 'surround'-Effekt dominiert.

Nach den bedeutenden Fortschritten, die in der Erforschung der histologischen und physiologischen Organisation der Retina erzielt wurden, versuchte man auch die pharmakologische Organisation retinaler Strukturelemente zu entschlüsseln.

Mit fluoreszenzmikroskopischen und histochemischen Methoden ist der Nachweis von Substanzen, die allgemein im ZNS der Wirbeltiere als Überträgersubstanzen diskutiert werden, in retinalen Strukturen gelungen. Um jedoch als Transmittersubstanz identifiziert werden zu können, muss eine Substanz folgende Kriterien erfüllen (ECCLES 1964; CURTIS und CRAWFORD 1969; WERMAN 1966):

- 1) Histochemische Identität, d.h. der Transmitter und die entsprechenden synthetisierenden und abbauenden Fermentsysteme müssen in den Nervenendigungen nachgewiesen sein.
- 2) Physiologische Identität, d.h. die Wirkung des vermuteten Transmitters auf das postsynaptische Neuron muss identisch sein mit dem durch synaptische Reizung hervorgerufenen Effekt.
- 3) Pharmakologische Identität, d.h. Substanzen, die mit der Aktivität des Neurons interferieren, müssen auch die Effekte des vermuteten Transmitters gleichartig beeinflussen.

- 4) Chemische Identität, d.h., der durch Reizung an der Nervenendigung freigesetzte Transmitter muss identisch sein mit der vermuteten Transmittersubstanz. Dieser direkteste Beweis ist im ZNS am schwierigsten zu erbringen.

Mit bio- und histochemischen Methoden ist es - wie oben erwähnt - verschiedenen Arbeitsgruppen gelungen, mögliche Transmittersubstanzen, sowie deren Enzyme, in den verschiedenen Retinaschichten nachzuweisen (Kriterium 1). Es war Ziel dieser Arbeit, durch mikroiontophoretische Applikationen die Wirkungen dieser Substanzen auf einzelne Ganglienzellen der Katze zu prüfen, um dadurch ggf. die Kriterien 2 und 3 zu erfüllen.

II. METHODEN

1. Systemische Applikation von L-Dopa

Die Versuche wurden an insgesamt 50 erwachsenen Katzen durchgeführt, deren Gewicht ca. 2 - 3,5 kg betrug. Zu Beginn wurde den Tieren 25 mg/kg Natriumpentobarbiturat (Nembutal^R) intraperitoneal injiziert; dann wurden sie nach Anlegen eines Venenkatheters in einen stereotaktischen Kopfhalter eingespannt. Anschliessend wurden sie durch intravenös verabreichtes Gallamin-triethiodid (Flaxedil^R) immobilisiert und über eine Trachealkanüle künstlich beatmet. Der CO₂-Gehalt der Ausatemungsluft wurde zwischen 3,5 - 4 % gehalten, die Körpertemperatur durch ein Heizkissen auf etwa 38° C eingestellt.

Die Nickhäute wurden durch Phenylephrin-hydrochlorid (Neosynephrin^R) kontrahiert und die Pupillen durch Atropinsulfat maximal dilatiert. Die Cornea wurde durch Kontaktlinsen vor Austrocknung geschützt. Nach Anlegen einer Trepanationsöffnung von ca. 6 mm Durchmesser wurde die darunterliegende Dura abpräpariert und mit einer monopolaren Stahlelektrode (Spitzendurchmesser etwa 50 μm) der Tractus opticus (T.O.) stereotaktisch aufgesucht. Durch ein Strobotron-Gerät wurden Lichtblitze (Intensität 0,07 I/Blitz; Dauer 0,1 msec) mit verschiedenen Frequenzen ausgelöst. Die durch diese binokularen Lichtreize evozierten T.O.-Potentiale wurden über einen Kathodenfolger, Vor- und Hauptverstärker auf einen Kathodenstrahloszillographen und Lautsprecher übertragen. Die Einzelantworten auf jeweils 250 Blitze wurden durch einen Cat-1000-Computer aufsummiert und gemittelt. Die Intensität der Hintergrundbeleuchtung betrug etwa 50 cd/m^2 .

Mit einer Silberballelektrode wurde gleichzeitig von der Corneaoberfläche gegen eine indifferente Elektrode, die am Os frontale fixiert war, das Elektroretinogramm (ERG) abgeleitet.

3,4-Dihydroxyphenyl-alanin (L-Dopa) wurde in 5-10 ml körpertemper, physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und über einen Dauerkatheder langsam in die Vena femoralis injiziert. Als Kontrolle wurde die jeweils gleiche Menge der NaCl-Lösung ohne Testsubstanz verabreicht.

2. Iontophoretische Applikation von Aminosäuren und biogenen Aminen

Diese Versuche wurden an insgesamt 96 erwachsenen Katzen durchgeführt.

Die Präparation der Tiere erfolgte unter Äthernarkose.

Druckstellen wurden mit Xylokain^R-Spray lokalanästhesiert und durch Carbostesin^R-Infiltration leitungsanästhesiert.

Wenn die Pupillen durch Atropineinträufelung in den Bindehautsack erweitert waren, wurden Cornea und Linse abpräpariert; darauf wurden die Iontophorese-Elektroden mit Hilfe eines Mikromanipulators unter visueller Kontrolle durch den Glaskörper hindurch auf die Retina aufgesetzt.

Die Herstellung dieser Vierfach-Elektroden (Abb. 3) erfolgte nach der von HERZ u.a. (1965) beschriebenen Methode: Es wurden Röhrchen aus Pyrexglas von etwa 10 cm Länge verwendet, die im Bereich von zwei aufgeschobenen Halteringen durch einen Zweikomponentenkleber auf Aralditbasis fixiert wurden. Diese Rohlinge wurden in einem Elektrodenpuller nach Winsbury mit senkrechter Zugachse in zwei Phasen ausgezogen. Man erhielt dadurch jeweils zwei Elektroden, die gleichermaßen verwendbar waren. Der Durchmesser der Gesamtspitze wurde unter dem Mikroskop auf 3-8 µm zugeschliffen.

Das Füllen dieser mehrkanuligen Mikropipetten geschah auf folgende Weise: Die Elektroden wurden in destilliertem Wasser gekocht. Nach Abkühlung wurde das Wasser mit Hilfe eines Polyäthylenschläuchleins und einer 0,5 ml-Rekordspritze soweit als möglich aus den einzelnen Kanälen abgesaugt und

durch die verschiedenen Testlösungen ersetzt. Die so gefüllten Mikropipetten wurden bei 4° C aufbewahrt und ca. 24 Stunden später verwendet.

Allgemeine Bemerkungen zur Mikroelektrophorese:

Unter Elektrophorese versteht man ganz allgemein die relative Bewegung einer geladenen Oberfläche (z.B. Ionen) zur stationären Flüssigkeit durch ein angelegtes elektrisches Feld. Dabei werden die biologisch aktiven Ionen je nach ihrer chemischen Struktur als Kationen oder Anionen ausgetrieben. Mikroelektrophorese umfasst also vor allem die Begriffe der Iontophorese (Mikroelektrophorese im engeren Sinn) und der Elektroosmose (CURTIS 1964; STEINER 1971).

Wenn die elektrische Leitfähigkeit einer Substanz im Vergleich zur Gewebsflüssigkeit hoch ist, wird der Ionenaustrom in erster Annäherung durch das Faraday'sche Gesetz bestimmt: $M_i = \frac{n \cdot x \cdot i}{z \cdot x \cdot F}$ (M_i = Ionenstrom in mol/sec; i = Phoresestrom; n = Transportzahl des Ions; F = Faraday'sche Konstante; z = Valenz des Ions). Da die Transportzahl wiederum von einer Anzahl Variabler abhängt, bestehen in Wirklichkeit erhebliche Abweichungen von theoretischen Werten. Dass die aus einer bestimmten Pipette freigesetzte Substanzmenge dem angelegten elektrischen Strom proportional ist, wurde von KRNJEVIC u.a. (1963a und b) am Beispiel von Aminen und von HERZ u.a. (1969) für Glutaminsäure und γ -aminobuttersäure (GABA) nachgewiesen. Da es bisher nicht möglich ist, die Konzentration einer Substanz am Rezeptor des getesteten

Neurons zu bestimmen, ist es üblich geworden, Dosierungen als Stromstärke in Nanoampere (nA) auszudrücken. Neben der Stromwirkung können Diffusion und hydrostatischer Druck die Freisetzung beeinflussen. Die spontane Diffusion von Ionen kann durch Anlegen eines umgekehrt gepolten Stromes weitgehend verhindert werden, verursacht jedoch ein Ausströmen des komplementären Ions, welches daher pharmakologisch inaktiv sein muss. Auch sollte aus diesen Gründen die Konzentration der Substanzen möglichst niedrig gehalten werden. Das Herausströmen einer Lösung durch den hydrostatischen Druck kann vermindert werden, indem der Durchmesser der Elektroden Spitze möglichst klein gehalten wird; denn der Ausstrom ist proportional der 4. Potenz des Öffnungsradius. Dem hydrostatischen Druck wirkt auch die Kapillarität in der Mikropipette entgegen. Die Konzentration der Lösung und der Spitzendurchmesser der Pipetten bestimmen auch den elektrischen Widerstand der Elektroden, der bei den nachfolgend beschriebenen Experimenten zwischen 2-10 Megohm betrug.

Damit das Agens gut ionisiert ist, sollte der pH-Wert möglichst weit vom pK-Wert entfernt sein. Keinesfalls dürfen aber die Grenzen von pH 2,5 bzw. 9,0 überschritten werden, da die Nervenzellen sonst durch freigesetzte H^+ - oder OH^- -Ionen beeinflusst werden (CURTIS 1964).

Auch direkte Wirkungen des elektrischen Stromes können zu Artefakten führen. So verursacht kationischer Strom (Elektroden Spitze positiv = Na^+ austreibend) eine Abnahme der Entladungsfrequenz, anionischer (Elektroden Spitze negativ = Cl^- austreibend) dagegen eine Zunahme. Obwohl deutliche Wir-

kungen bei Stromstärken zwischen 20-100 nA nur selten auftraten, wurden folgende Kriterien zur Differenzierung herangezogen (CURTIS 1964):

1. Beginn und Ende von Substanzwirkungen besitzen eine Latenz von mindestens 100 msec, während elektrotonische Effekte unmittelbar einsetzen und abklingen.
2. Stromwirkungen sind im allgemeinen mit Änderungen der Höhe des Aktionspotentials verbunden.
3. Wechsel der Stromrichtung bedingt eine Umkehr der Wirkung: Zunahme der Entladungsfrequenz geht in Abnahme über und umgekehrt.
4. Jeweils eine der Pipetten wird wie die Ableitelektrode mit 4 mol NaCl-Lösung (pH 5,0) gefüllt und dient zur Kontrolle von Stromeffekten. Die übrigen Pipetten enthalten die Testsubstanzen.

Die extrazellulär abgeleitete neuronale Aktivität wurde über einen Kathodenfolger in einen AC-Verstärker geleitet. Zur Kompensation der Kapazität zwischen Elektrode und Erde war eine kapazitätsneutralisierende Schaltung vorhanden. Die Aktionspotentiale wurden mit einer Kamera vom Kathodenfolger gefilmt und mit einem Schmitt-Trigger in standardisierte Impulse umgewandelt; diese wurden von einem Impulzzähler registriert und von einem x-y-Schreiber als Entladungsfrequenz aufgezeichnet.

Die Elektrophoreseströme konnten mit einer Genauigkeit von ± 1 nA gemessen werden.

Die Spontanaktivität wurde bei einer Hintergrundbeleuchtung von 50 cd/m^2 abgeleitet. Lichtreaktionen wurden durch intermittierende, diffuse Beleuchtungen der Retina von 200 msec bis 1 sec Dauer und 100 cd/m^2 Intensität ausgelöst.

Bei antidromer Reizung wurden die elektrischen Schocks (Dauer 0,1 sec; Frequenz 1/sec) mittels einer konzentrischen Reizelektrode hervorgerufen, welche auf die Papille des Sehnerven aufgesetzt wurde.

Zur Unterscheidung zwischen Nervus opticus- und Ganglienzell-Potentialen wurden folgende Kriterien benützt.

1. Form und Polarität des Spikes (BISHOP u.a. 1962 (positiv-negative Potentiale; 'AB-step')).
2. Die Lokalisation der Elektrode in der Retina, welche durch den Abstand von der retinalen Oberfläche und durch die Amplitude und Polarität der b-Welle des ERG's angezeigt wird (BROWN und WIESEL 1961).
3. Nur Zellen werden durch Glutamat-Applikation erregt, nicht jedoch Fasern (CURTIS 1969).

Folgende Kriterien wurden zur Klassifizierung des Reaktionstyps der Ganglienzellen verwendet:

on-center Neurone: Erregung bei 'Licht an' und kurzzeitige poststimulatorische Hemmung.

off-center-Neuron: Hemmung bei 'Licht an' und Aktivierung bei 'Licht aus'.

'on-off'-Neuron: Erregung bei 'Licht an' und 'Licht aus'.

Verwendete Testsubstanzen:

Dopamin-hydrochlorid (0,5 M; pH 3,0)

L-Noradrenalin-hydrogentartrat (0,5 M; pH 4,0)

D-Amphetamin-sulfat (0,2 M; pH 4,0)

γ -aminobuttersäure (2 M; pH 4,5 - 5,0)

Natrium-glutamat (3 M; pH 8,4)

Serotonin-creatininsulfat (0,2 M; pH 4,5) bzw.

-bimaleinat (0,1 M; pH 3,5)

Acetylcholin-chlorid (2M; pH 4,0).

III. ERGEBNISSE

1. Wirkung von Aminosäuren

1.1 Glutamat

Freie Aminosäuren (AS) können aufgrund ihrer endständigen Gruppen in saure, neutrale und basische AS eingeteilt werden. Während letztere bisher noch nicht systematisch getestet wurden, hat unter den sauren AS die l-Glutaminsäure (Gl) grosse Bedeutung erlangt.

90 % aller getesteten Einheiten wurden durch mikroiontophoretisch appliziertes Gl aktiviert (Abb. 14 und 15). Dieser Effekt trat bereits bei Dosen von 10-40 nA wenige 100 msec nach Einschalten des Stromes auf, erreichte nach 1-2 sec ein Maximum und klang nach Abschaltung ebenso rasch wieder ab. Sowohl die Spontanentladungen, wie die optische Reizaktivität aller Zelltypen wurden vermehrt. Dosissteigerungen führten zu proportionalen Frequenzzunahmen und Latenzverkürzungen. Höhere Dosen (60-100 nA) verursachten nach Erreichen einer maximalen Spikefrequenz von 600-800/sec eine zunehmende Amplitudenverminderung und Verbreiterung der Potentiale; danach kam es meist zu burstartigen Entladungsgruppen mit weiterer Verkleinerung der Aktionspotentiale und schliesslich zum Aufhören der Entladungstätigkeit, d.h. zum Depolarisationsblock (CURTIS u.a. 1960; HERZ u. v. FREYTAG-LORINGHOVEN 1968). Nach Ausschalten des Gl-Stromes erholte sich das Neuron häufig nach einiger Zeit wieder. Eine erneute Gl-Gabe erbrachte die gleichen Effekte, und auch wiederholte Testungen führten zu keiner Wirkungsabnahme.

Inhibitorische Mechanismen wie on- bzw. off-Hemmungen konnten durch Gl vermindert werden. Bei 10 % aller getesteten Einheiten blieb auch die Gabe hoher Gl-Dosen über längere Zeit ohne signifikanten Effekt. In diesen Fällen waren auch die übrigen Testsubstanzen der jeweiligen Vielfachelektroden völlig wirkungslos. Aus dieser Tatsache konnten die betreffenden Einheiten als Faserstrukturen identifiziert werden, zumal meist auch die anderen für eine solche Differenzierung erforderlichen Kriterien (s. Methodik) nachweisbar waren.

1.2 GABA

Glutamat wird im Stoffwechsel zu der neutralen Aminosäure γ -aminobuttersäure (GABA) decarboxyliert.

Diese Substanz bewirkte - iontophoretisch appliziert - bereits in Dosen von 10-40 nA bei 99 von 102 getesteten Ganglienzellen (97 %) eine deutliche Abnahme der spontanen und Licht-induzierten Aktivität (Abb. 4). Dieser Effekt trat - ähnlich dem Glutamat - nach einer sehr kurzen Latenz ein, erreichte ein dosisabhängiges Maximum (Abb. 5) und war schnell reversibel. Erhöhungen des GABA-Stromes gingen mit einer zunehmenden Latenzverminderung einher. Proportional zur Dosissteigerung verstärkte sich der Hemmeffekt, der in ein jeweiliges steady state überging (Abb. 5); entsprechend länger dauerte es jeweils nach Abschalten des Phoresestromes, bis die normale Entladungsfrequenz wieder erreicht war; diese betrug bei allen getesteten Ganglienzellen im Durchschnitt 40 ± 25 Entladungen /sec.

Obwohl die Spontanaktivität durch 60-80 nA GABA meistens fast vollständig unterdrückt wurde, vermochten Lichtreize im allgemeinen noch Reaktionen hervorzurufen. Erst durch weitere Dosiserhöhungen (80-150 nA) konnte in der Regel eine totale Inhibition der visuellen Reizantworten erreicht werden. On- und off-Erregungen wurden gleichermaßen gehemmt, on- und off-Hemmungen verstärkt (Abb. 7). Mit der Abnahme der Spikefrequenz ging eine Latenzverlängerung aller excitatorischen Reaktionen einher. Dabei blieb die Amplitude der Potentiale meist unverändert; nur selten wurde eine deutliche Vergrößerung beobachtet.

Interaktion zwischen Gl und GABA

Die durch GABA hervorgerufene Inhibition konnte durch gleichzeitige Gl-Gabe weitgehend aufgehoben werden; auch die Latenzen der durch visuelle Reize hervorgerufenen Entladungen verkürzten sich wieder. Umgekehrt vermochten kleine GABA-Dosen Inaktivierungserscheinungen nach hohen Gl-Dosen wieder rückgängig zu machen. Auch bei vollkommenem Depolarisationsblock war es möglich, durch GABA-Ströme wieder eine - auf Repolarisation beruhende - Entladungstätigkeit auszulösen. Stromkontrollen nach den in der Methodik beschriebenen Kriterien zeigten, dass die Wirkungen von Gl bzw. GABA auf Substanzeffekten und nicht auf elektrotonischen Mechanismen beruhten. Bei 3 Zellen zeigte sich GABA unwirksam; diese wurden jedoch durch andere Substanzen, welche in der betreffenden Vielfachelektrode enthalten waren (Dopamin, Serotonin bzw. Noradrenalin), beeinflusst (s. Kap. 2.5).

2. Wirkung von biogenen Aminen

Im Gegensatz zu den Aminosäuren besitzen biogene Amine, zu denen nach DE ROBERTIS u.a. (1969) neben Dopamin, Noradrenalin und Serotonin auch Acetylcholin gerechnet wird, keine allgemeinen metabolischen Funktionen (HEBB 1970); vielmehr kommen diese Substanzen nur in den Zellen vor, die ein spezielles Enzymsystem zur Synthese oder Inaktivierung besitzen.

2.1 Dopamin (DA)

2.1.1 Wirkung von DA auf einzelne retinale Ganglienzellen

Bei 90 von 100 getesteten Ganglienzellen unterdrückte DA in Dosen von 15-80 nA die Spontanaktivität vollständig (Abb. 8). Dieser Effekt begann mit einer Latenz von 200-400 msec und verstärkte sich kontinuierlich bis zu einem Maximum, das während der weiteren Applikationsdauer weitgehend konstant blieb. Die normale Spontanaktivität wurde nach Abschalten des DA-Stromes in einem ähnlichen Zeitverlauf wieder erreicht. Dosiserhöhungen verkürzten die Zeit, bis der Maximaleffekt eintrat und verlängerten die Erholungszeit (Abb. 9 A). Die Wirkung war qualitativ und quantitativ unabhängig vom neuronalen Reaktionstyp der Zellen. Kationischer Strom hatte nur eine geringe Hemmung.

Auch die Erregungen durch visuelle Reize (on- bzw. off-Aktivierung) wurden durch DA unterdrückt (Abb. 9 B), inhibitorische Ereignisse (on-Hemmung, präexcitatorische und post-stimulatorische Hemmung) verlängert und verstärkt. Die Ver-

längerung der Latenz von on- bzw. off-Erregung ging - ohne Verminderung der spike-Amplitude - mit einer Abnahme der Entladungsrate einher. Im Durchschnitt war die Latenzverlängerung der off-Entladungen signifikant grösser als die der on-Erregung.

2.1.2 Wirkung von L-Dopa auf die visuelle Reizantwort von Tractus-Opticus-Fasern

Da die direkte Applikation von Dopamin an einzelne Ganglienzellen deutliche inhibitorische Effekte bewirkte, sollte geprüft werden, ob diese Substanz bzw. deren metabolische Vorstufe - systemisch injiziert - auch die Amplitude von evozierten Potentialen vermindern würde.

Hierzu wurden die Massenantworten auf binokuläre Lichtblitze aus dem Tractus opticus (T.O.) abgeleitet. Diese bestehen hauptsächlich aus einem positiven ersten Potential (P_1) und einer negativen zweiten Abweichung; letztere hat jedoch - ebenso wie einige nachfolgende Oszillationen - nur eine geringe Amplitude. Gipfellatenz (15-30 msec) und Dauer von P_1 entsprechen den Primärentladungen vor allem der retinalen on-Einheiten (GRÜSSER und GRÜTZNER 1958; STERIADE und IONESCU 1967).

Weil DA die Blut-Retina-Schranke sehr schlecht penetriert (BERTLER u.a. 1966), wurde die chemische Vorstufe (L-Dopa) injiziert, welche diese Barriere relativ leicht zu durchdringen vermag. Im ZNS wird es von adrenergen Nervenendigungen aufgenommen und bewirkt eine erhöhte Synthese, Speicherung und Ausscheidung von DA (CARLSSON u.a. 1957).

Bei der Auswertung der aufsummierten Massenpotentiale (s. Methodik) wurden nur die Veränderungen von P_1 berücksichtigt, da diese Welle ein Mass für die durchschnittliche Latenz und Stärke der Erregung, d.h. für die Synchronisation retinaler on-Neurone während der Primäraktivierung ist.

In allen Experimenten verursachte L-Dopa eine dosisabhängige Amplitudenabnahme von P_1 (Abb. 10 A und B). Der Wirkungseintritt erfolgte nach 10 - 15 min; das Maximum war nach etwa 30 min erreicht und dauerte mehrere Stunden an. Die Verkleinerung der Amplitude des evozierten T.O.-Potentials korrelierte dabei im Sinne einer S-förmigen Dosis-Wirkungs-Kurve mit der Zunahme der L-Dopa-Dosis (Abb. 10 C). Die beobachtete Amplitudenverminderung ohne Verbreiterung der Form bedeutete Abnahme der Zahl und nicht Desynchronisierung der Entladungen.

Kontrollinjektionen mit physiologischer Kochsalzlösung bewiesen, dass dieser Effekt auf Substanzwirkungen zurückzuführen ist. Durch die Konstanz der b-Welle des mitregistrierten ERG's, welche ein empfindlicher Indikator retinaler Zirkulationsveränderungen ist (BROWN 1968; WITKOVSKY 1971), konnte ein allgemeiner Blutdruckabfall und eine Wirkung auf Photorezeptoren und Bipolarzellen als ursächlicher Mechanismus der L-Dopa-Wirkung ausgeschlossen werden.

2.1.3 Aufklärung des Wirkungsmechanismus: Hyperpolarisation und Abgrenzung von lokalanästhetischen und präsynaptischen Effekten

Antidrome Reizung

Von der natürlichen synaptischen Erregung, die in zellulifugaler Richtung fortgeleitet wird, ist die künstliche Entladung durch elektrische Axonreizung, welche auch rückläufig in das Nervenzellsoma führen kann, zu unterscheiden. Bei submaximaler Stimulierung der Papilla nervi optici wird ein negatives Feldpotential ausgelöst, das von einzelnen Ganglienzellen abgeleitet werden kann (STONE und FREEMAN 1971). Dieses besteht - wie beim Motoneuron - aus einem Initialsegment und einem somadendritischen Anteil, die dem Alles-oder-Nichts-Gesetz unterliegen; je nach Grösse des Membranpotentials der Zelle lassen sich beide Komponenten des antidromen Spitzenpotentials differenzieren (BISHOP u.a. 1962).

Falls DA bzw. GABA eine inhibitorische Transmitterfunktion besitzen, müsste ihre iontophoretische Verabfolgung einen Anstieg des postsynaptischen Membranpotentials herbeiführen; d.h., sie müssten somit die antidrome Spike-Generierung unterdrücken können. Dieser Effekt konnte mit hohen DA-Dosen (bis zu 200 nA) bei sehr wenigen Ganglienzellen erzielt werden. In diesen Fällen blockierte DA das antidrome Spitzenpotential in zwei Phasen (Abb. 11): Zuerst wurde das Soma-Dendriten-Potential unterdrückt, so dass nur die Initialsegment-Komponente übrig blieb; durch weitere Applikation oder Erhöhung der Dosis

verschwand jedoch auch diese. Nach Abschaltung des DA-Stromes regenerierte der antidrome Spike vollständig.

Auch durch sehr hohe GABA-Phoreseströme liess sich einige Male eine Inaktivierung des antidromen Impulses erreichen; auch diese Substanz supprimierte bei längerer Verabfolgung beide Potentialanteile.

Diese antidromen Reizversuche dienten der Aufklärung des Wirkungsmechanismus der DA- bzw. GABA-Hemmung, sowie der Abgrenzung von präsynaptischen und lokalanästhetischen Effekten.

Eine präsynaptische Hemmung entsteht nicht durch Hyperpolarisation der Nervenzellmembran, sondern wird durch axon-axonale Synapsen ermöglicht, deren Wirkung auf einer Depolarisation erregender Synapsenendigungen beruht (ECCLES 1964). Die Blockierung eines antidromen Impulses kann jedoch nur durch iontophoretische Simulierung postsynaptischer inhibitorischer Mechanismen (Hyperpolarisation) erfolgen.

Für einen postsynaptischen Wirkort des DA (und GABA) spricht auch der oben beschriebene Antagonismus mit Glutamat; denn diese Aminosäure interferiert nur mit postsynaptischen Rezeptoren (HEBB 1970).

Die Interaktion zwischen DA (bzw. GABA) und Gl macht auch eine Abgrenzung zu 'unspezifischen' lokalanästhetischen Wirkungen vom Procain-Typ möglich (HERZ und ZIEGLGÄNSBERGER 1968). Diese werden durch Stabilisierung der Zellmembran verursacht, die durch partielle Inaktivierung der Na^+ -Leitfähigkeit zustande kommt (CURTIS und PHILLIS 1960). Dies führt zu einer Amplitudenabnahme der Aktionspotentiale und zum Absinken der Entladungsrate.

Demgegenüber korrelierte bei der 'spezifischen' DA-Wirkung die Latenzverlängerung der Reizantworten dosisabhängig mit der Abnahme der Spikefrequenz, wobei die Amplitude der Aktionspotentiale eher zunahm (SALMOIRAGHI und STEFANIS 1967).

2.2 Wirkung von Noradrenalin (NA)

Bei 60 von 79 (76 %) getesteten Ganglienzellen bewirkte NA eine Hemmung sowohl der spontanen (Abb. 6 und 12) wie der durch diffuse Lichtreize hervorgerufenen Aktivität. Die verwendeten Dosen lagen zwischen 30-80 nA. Der Grad der Wirksamkeit und der Zeitverlauf waren den DA-Effekten recht ähnlich. Auch ein Antagonismus mit Glutamat war vorhanden. An 12 Neuronen wurde ein direkter Vergleich zwischen DA und NA durchgeführt. 10 Zellen wurden von beiden Substanzen etwa gleich stark gehemmt. Allerdings erreichte NA sein Wirkungsmaximum bei gleichen Dosierungen im Durchschnitt um einige Sekunden später als DA; auch war der Nacheffekt bei NA stärker ausgeprägt und dauerte länger an. Während also keine qualitativen Differenzen zwischen den beiden Catecholaminen festzustellen waren, erforderten identische quantitative Effekte meist einen ca. 10-20 nA stärkeren NA-Strom. Bei den restlichen der getesteten Neurone blieben beide Substanzen ohne signifikante Wirkung. Eine Aktivierung der neuronalen Aktivität durch NA konnte - ebenso wie bei DA - in dieser Serie nicht beobachtet werden.

2.3 Wirkung von D-Amphetamin

An 8 Ganglienzellen wurden die Wirkungen von Amphetamin und DA verglichen. 6 Neurone wurden von DA deutlich stärker gehemmt als von Amphetamin. Identische Wirkungen erforderten meist weitaus höhere Amphetamin-Dosen; ausserdem waren Frequenzverminderungen durch dieses Psychoanaleptikum in einigen Fällen mit ausgeprägten Amplitudenverkleinerungen verbunden. Dieser Befund könnte im Sinne einer lokalanästhetischen Wirkung interpretiert werden (KRNJEVIC und PHILLIS 1963; BRADLEY und WOLSTENCROFT 1965). Die restlichen beiden Einheiten zeigten auf beide Substanzen keine Reaktion.

2.4 Wirkung von Serotonin (5-HT)

In einer ersten Serie wurde die Wirkung von 5-HT-Creatininsulfat auf retinale Ganglienzellen getestet. Diese Substanz blieb bei 18 von 21 Zellen wirkungslos; 2 Neurone wurden etwas gehemmt, 1 Neuron leicht erregt.

BRADLEY und WOLSTENCROFT (1965) hatten bei Untersuchungen von Zellen des Hirnstammes der Katze häufig eine aktivierende Wirkung des 5-HT festgestellt und dies auf die Trägersubstanz Creatininsulfat zurückgeführt. ENGBERG und RYALL (1966) beschrieben bei ähnlichen Experimenten am Rückenmark der Katze die schlechte Löslichkeit des 5-HT-Creatininsulfat-Komplexes. Sie berichteten weiter, dass die mit dieser Substanz gefüllten Elektroden einen hohen elektrischen Widerstand besäßen und den Aktionspotentialen während des Phoresestromflusses Artefakte von 50 Hz Frequenz überlagert gewesen seien. Da diese

Beobachtungen in der Retina bestätigt werden mussten, wurde in einer zweiten Serie Bimaleinat als Trägersubstanz verwendet, das pharmakologisch inaktiv ist und gute Löslicheitseigenschaften besitzt (BRADLEY und WOLSTENCROFT 1965).

In dieser Serie sollte ausserdem ein möglicher Einfluss der Barbiturat-Narkose auf die Wirksamkeit des 5-HT geprüft werden. MARLEY und VANE (1963) hatten nämlich beschrieben, dass Rückenmark-Neurone der Katze insbesondere durch Barbiturate unempfindlicher gegen Tryptophanderivate würden. Bei den Experimenten mit 5-HT-Bimaleinat machte es jedoch keinen Unterschied, ob Tiere verwendet wurden, welche in Barbituratnarkose - wie in der ersten Serie - oder in Äthernarkose präpariert worden waren:

Von insgesamt 154 getesteten Zellen wurden 126 (82 %) deutlich gehemmt (Abb. 6). Die benötigte Dosierung lag zwischen 30-100 nA. Die Wirkung begann im allgemeinen nach einer Latenz, die unter 1 sec lag und verstärkte sich bis zu einem dosisabhängigen Maximum; sie hatte einen nur wenige Sekunden dauernden Nacheffekt. Bei längerer Applikationsdauer (über 20-30 sec) konnte die Inhibition plötzlich in Excitation umschlagen, die sogar bis zu einem Depolarisationsblock gehen konnte. Dieselbe Beobachtung konnte jedoch einige Male auch bei langen Stromkontrollen gemacht werden, sodass ein spezifischer dualistischer 5-HT-Effekt nicht wahrscheinlich sein dürfte. Aber nicht nur die Spontanaktivität, sondern auch die Reaktionen auf visuelle Reize konnten durch 5-HT-Bimaleinat vermindert werden (Abb. 7), wobei eine prinzipielle Überein-

stimmung mit GABA-, DA- oder NA-Wirkungen festzustellen war (s. Kap. 2.5).

Ebenso wie bei GABA, DA und NA bestand auch bei 5-HT kein Zusammenhang zwischen inhibitorischer Wirkung und einer bestimmten funktionellen Ganglienzell-Organisation. 26 der 154 getesteten Ganglienzellen blieben unbeeinflusst, 2 wurden aktiviert.

2.5 Wirkungsvergleiche zwischen GABA, 5-HT und DA bzw. NA

80 Ganglienzellen wurden durch GABA, 5-HT und eines der Catecholamine getestet; diese Substanzen wurden nacheinander aus den Pipetten der Vierfachelektroden ausgetrieben. Es ergaben sich sehr viele Wirkkombinationen (Tab. 1):

Die meisten der 47 Zellen wurden durch alle drei Substanzen gehemmt; allerdings mit deutlicher Abstufung in der Wirkungsstärke; d.h. gleiche Dosierung ergab unterschiedliche Effekte, bzw. identische Effekte erforderten unterschiedliche Phoreseströme (Abb. 6 und 7). Am wirksamsten war meistens GABA, gefolgt von DA und 5-HT; recht häufig jedoch war DA die am stärksten hemmende Substanz, während GABA und 5-HT schwächer wirksam waren. NA war im allgemeinen die am schwächsten wirksame Substanz.

21 Neurone wurden durch jeweils 2 der 3 getesteten Substanzen beeinflusst, während 11 Ganglienzellen lediglich von einer Testsubstanz gehemmt wurden. GABA war nur an 3 Einheiten unwirksam, die anderen Substanzen deutlich häufiger (Tab. 1).

Auch in dieser Versuchsserie konnten keine deutlichen Aktivierungen registriert werden; lediglich eine Zelle wurde durch DA und 5-HT leicht aktiviert, während GABA hemmte. Mit Ausnahme von 2 Zellen bestand keine Korrelation zwischen den pharmakologischen Eigenschaften einer Zelle und ihrem Reaktionstyp. Diese beiden Ganglienzellen zeigten nur geringe phasische Reaktionen und wurden vorwiegend tonisch durch Dunkelreize aktiviert. Nur 5-HT-Phoreseströme führten zu einer Abnahme der Entladungsrate, während das ebenfalls in der Elektrode enthaltene GABA und NA ohne Einfluss blieben. Überraschenderweise rief ein mechanischer Druck der ipsilateralen Pfote des Tieres ebenfalls eine signifikante Verminderung der Spikerate hervor.

Ermittelt wurden auch die Dosierungen, die erforderlich waren, um die visuelle Reizantwort einer Ganglienzelle vollständig zu unterdrücken. Dabei zeigten sich die gleichen Wirkungsabstufungen, die schon bei der Testung von Aktivitätsänderungen der Spontanentladungen und auch hinsichtlich der Interaktion mit Glutamat aufgetreten waren.

2.6 Acetylcholin (ACh)

In einer ersten Phorese-Serie wurden von 122 getesteten Ganglienzellen lediglich 32 (26 %) durch 40-200 nA ACh beeinflusst: Ein Teil der 32 Zellen wurde aktiviert, der Rest gehemmt. Bei der Auswertung zeigte sich, dass on-center-Neurone überwiegend gehemmt, die Aktivität der off-center-Neurone dagegen verstärkt wurde. Dieser Befund legte die Vermutung nahe,

dass iontophoretisch appliziertes ACh unterschiedlich auf beide neuronalen Reaktionstypen wirken könnte.

Der relativ niedrige Anteil beeinflusster Ganglienzellen könnte dadurch zu erklären sein, dass nur ein kleiner Teil dieser Zellpopulation ACh-empfindlich ist; es wäre jedoch auch vorstellbar, dass ACh die Rezeptoren der subsynaptischen Dendritenmembranen nicht in genügend hoher Konzentration erreicht hat, falls ein grosser Teil von der in hoher Konzentration vorhandenen Acetylcholinesterase hydrolysiert worden wäre. Die Distanz zwischen der meist Soma-nahen Ableitelektrode und den axodendritischen Synapsen in der inneren plexiformen Schicht ist nämlich ziemlich lang (bis 0,5 mm).

Wirkung der Cholinesterase-Hemmer:

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde den Tieren in einer zweiten Serie - nachdem jeweils einige Zellen mit ACh getestet worden waren - ein Cholinesterase-Hemmer (0,15 mg/kg Physostigmin = Eserin) intravenös injiziert; dadurch sollte die verfügbare Menge an aktivem ACh - durch Hemmung der Inaktivierung - erhöht werden.

In Übereinstimmung mit dieser Hypothese stieg der Anteil ACh-empfindlicher Neurone von 33 % vor Eserin-Injektion (21 von 65 getesteten Zellen) auf 84 % an (Tab. 2): Nach der Eserin-Gabe wurden von 94 Einheiten 82 beeinflusst, wobei nun alle on-center-Neurone gehemmt und fast alle off-center-Ganglienzellen durch Dosen von 20-80 nA ACh erregt wurden. Auffallend war auch, dass der im allgemeinen sehr hohe Anteil von 'on-off'-

Zellen nach Physostigmin-Injektion deutlich kleiner wurde, d.h. trotz der Verwendung diffuser Lichtreize waren die meisten Neurone einem der beiden retinalen Reaktionstypen zuzuordnen. Die Aktivierung der off-Einheiten begann 1-6 sec nach Einschalten des ACh-Stromes, nahm in den folgenden 2-10 sec progredient zu und erreichte ein konstantes Plateau (Abb. 13 A). Nach Abschaltung klang die Erregung in einem ähnlichen Zeitverlauf wieder ab. Bei einigen Neuronen ging der Aktivierung eine kurzzeitige Verminderung der Entladungsrate voraus (Abb. 13A). Diese initiale Hemmung hatte eine Latenz von 100-500 msec und war gewöhnlich nur teilweise durch kationischen Strom (Na^+ -Ionen-Fluss) reproduzierbar. Die Latenzen von Wirkungseintritt und -maximum waren viel kürzer, die Schwellendosen deutlich niedriger als bei Katzen der ersten Versuchsserie bzw. vor der Eserin-Injektion.

Fast die Hälfte dieser Zellen wurde durch ACh ebenso stark aktiviert wie durch Glutamat - bei gleichen Dosierungen (20-60 nA). Gewöhnlich traten Gl-Erregungen jedoch im Vergleich zu ACh schneller ein und klangen rascher ab (Abb. 14 A und 16 A). Nur an wenigen Zellen war Acetylcholin wirksamer als Glutamat (Abb. 14 B); dieser Effekt trat meist dann ein, wenn die Vielfachelektrode bis in die innere plexiforme Schicht vorgeschoben war, wo dann die Registrierung von einzelnen Ganglienzellen erfolgte. Im Vergleich zur Soma-nahen Ableitposition nahmen die spike-Amplitude und die Stärke der Gl-Erregung ab; dagegen war die Aktivierung durch ACh viel stärker ausgeprägt, wobei deren Latenz abnahm (Abb. 16 A und B).

Allerdings konnten auch hohe ACh-Dosen keinen Depolarisationsblock verursachen, wie dies bei Gl der Fall sein konnte.

Bei ca. 30 % der getesteten Neurone wurde die Reaktion auf ACh während wiederholter Applikationen schwächer, sog. Tachyphylaxie (Abb. 15). Die Empfindlichkeit gegenüber Gl veränderte sich jedoch auch nach mehreren ACh-Gaben nicht, d.h. es handelte sich hierbei um eine 'spezifische' Tachyphylaxie.

Während diffuser intermittierender Lichtblitze erhöhte ACh die off-Antwort der off-center-Einheiten und verminderte deren Hemmung während der Belichtung.

Der hemmende Effekt des ACh, der nur auf on-center-Neurone beschränkt war, hatte einen ähnlichen Zeitverlauf wie der excitatorische Effekt auf off-center-Zellen (Abb. 13 B und 17). Er setzte nach 1-5 Sekunden ein, erreichte sein Maximum nach 6-18 sec und war 6-12 sec nach Beendigung des ACh-Stromes wieder abgeklungen. Bei 60 % der getesteten on-center-Neurone war die Inhibition durch ACh deutlich schwächer ausgeprägt als durch gleiche Dosen von GABA oder DA. Die excitatorische on-Reaktion wurde vermindert und die post-stimulatorische Hemmung bei 'Licht aus' verstärkt und verlängert.

Wirkung von Acetylcholin-Antagonisten

Die Effekte der potentiellen cholinergen Transmittersubstanzen werden im ZNS - ebenso wie an peripheren Strukturen - durch die Affinität zu muskarinischen und/oder nikotinischen Rezeptoren der subsynaptischen Membranen ermöglicht.

Durch kompetitive Hemmung dieser Rezeptoren mit Atropin bzw. Dihydro- β -erythroidin (DHE) wurde versucht, die Wirkungsweise des Acetylcholin auf retinale Ganglienzellen zu differenzieren. Zu diesem Zweck wurde Atropin elektrophoretisch an 10 Ganglienzellen appliziert: Durch Dosen von 20-100 nA wurden 6 Einheiten gehemmt; 1 Zelle wurde aktiviert und 3 blieben unbeeinflusst. Bei gleichzeitiger Gabe von ACh und Atropin wurden die inhibitorischen bzw. excitatorischen ACh-Wirkungen stark abgeschwächt und die Latenzen, sowie die Nacheffekte dieser Reaktionen verlängert. Allerdings waren inhibitorische Atropin-Effekte meist mit einer deutlichen Amplitudenabnahme der Spikes verbunden. Dieser Befund legte eine ähnliche unspezifische Wirkung auf die Ganglienzell-Membranen nahe, wie sie nach vergleichender iontophoretischer Testung von Atropin und Procain an spinalen Interneuronen (CURTIS und PHILLIS 1960) für beide Substanzen beschrieben worden war.

Um solche lokalanästhetischen Effekte möglichst auszuschließen, wurde 3 mit Eserin vorbehandelten Katzen 0,2-0,5 mg/kg Atropinsulfat intravenös injiziert. Diese Substanz verursachte keine signifikanten Änderungen der spontanen oder der Licht-induzierten Aktivität der Ganglienzellen. Bei der iontophore-

tischen Testung der Zellen war jedoch festzustellen, dass off-center-Neurone durch ACh - im Vergleich zur Kontrollgruppe vor Atropininjektion - statistisch signifikant (χ^2 -Test: $p < 0,05$) seltener erregt wurden (Tab. 3).

Von 2 Zellen dieses Reaktionstyps konnte die neuronale Aktivität vor und nach der systemischen Atropin-Gabe registriert werden: Während beide Neurone vorher durch ACh sehr stark erregt worden waren, hatten sie einige Minuten nach der Atropininjektion (0,2 mg/kg) diese ACh-Empfindlichkeit vollständig verloren.

Dagegen blieb die inhibitorische Wirkung von ACh auf on-center-Neurone durch Atropininjektionen unbeeinflusst (Tab. 3). Eine on-center-Einheit wurde vor und nach 0,5 mg/kg Atropin in gleicher Stärke gehemmt.

Während Atropin - wie oben erwähnt - die muskarinartige Wirkung des ACh blockiert, hemmt Dihydro- β -erythroidin (DHE) vor allem die nikotinartigen Effekte des ACh (STEINER 1971).

Nach intravenöser Injektion von 0,3-0,5 mg/kg DHE kamen inhibitorische und excitatorische ACh-Wirkungen in gleicher Häufigkeit vor wie in der Neuronenpopulation vor der Injektion. Auch die Reaktionen von fünf off-center- und zwei on-center-Neuronen auf ACh blieben durch DHE-Injektion völlig unverändert.

IV. DISKUSSION

1. Aminosäuren

Freie Aminosäuren kommen im Nervensystem der Wirbeltiere in weitaus höherer Konzentration vor als im Blutplasma (BRADLEY 1968). In subzellulären Fraktionen von Hirnhomogenaten waren diejenigen Aminosäuren am höchsten konzentriert, welche die stärkste Wirkung auf die neuronale Aktivität ausüben (WHITTAKER 1968): Zu diesen Substanzen gehörten Glutaminsäure und γ -aminobuttersäure (GABA).

Auch in der Retina konnte GABA mit seinen auf- und abbauenden Enzymen nachgewiesen werden; KURIYAMA u.a. (1968) beschrieben, dass GABA und die l-Glutaminsäure-Decarboxylase, welche die Bildung von GABA aus l-Glutaminsäure katalysiert, beim Kaninchen besonders in der inneren plexiformen und der Ganglienzellschicht vorkommen. GABA-Transaminase, welche den Abbau von GABA zu Bernsteinsäure-Semialdehyd katalysiert, war dagegen in erheblicher Menge im Nervus opticus nachweisbar. Auch durch autoradiographische Methoden gelang die Darstellung von GABA vorwiegend in der inneren plexiformen Schicht (EHINGER 1970). Somit sind beide Aminosäuren - Glutaminsäure und das antagonistisch wirkende Stoffwechselprodukt GABA - in der gleichen Zellfraktion und vermutlich sogar zusammen in den Vesikeln vorhanden. Allerdings gibt es keine Technik, um die genaue Lokalisation der Aminosäuren in den synaptischen Zellstrukturen histochemisch nachweisen zu können.

GRAHAM u.a. (1968) beschrieben beim Frosch eine Abnahme des retinalen GABA-Gehaltes nach diffuser Lichtreizung.

Nach Injektion in die A. lingualis erhöhte Glutamat die spontane und die durch Lichtblitze ausgelöste Aktivität retinaler Ganglienzellen, während GABA eine stark hemmende Wirkung hatte (STRASCHILL 1968). AMES und POLLEN (1969) berichteten über entsprechende Effekte dieser Substanzen in der isolierten Kaninchenretina - allerdings traten diese erst bei relativ hoher Dosierung auf. Diese Autoren hatten die jeweiligen Testreagenzien dem Inkubationsmedium beigegeben und die Aktionspotentiale von einzelnen Ganglienzellen abgeleitet. Auch beim Frosch verursachten Glutamat und GABA eine Zunahme bzw. Verminderung der Ganglienzellaktivität (KISHIDA und NAKA 1967, 1968).

Die Ergebnisse all dieser Untersuchungen stehen also in vollem Einklang mit den Resultaten der in Kap 2.1 beschriebenen iontophoretischen Experimente.

Wegen der ubiquitären Erregungswirkung des Glutamats im ZNS hielt KRNJEVIC (1965) diese Aminosäure für einen allgemein excitatorischen Transmitter im ZNS. Andere Autoren (CURTIS u.a. 1960) sahen gerade in der Tatsache, dass praktisch alle getesteten Neurone durch Gl aktiviert werden, den Beweis für einen unspezifischen Effekt.

Durch intrazelluläre Ableitungen von corticalen Neuronen konnten KRNJEVIC und SCHWARTZ (1967 b) nachweisen, dass die Depolarisation durch Glutamat mit einem Anstieg der Membranleitfähigkeit einhergeht, der auf einem Ionenfluss durch die

Membran beruht. Die entsprechenden Ionenmechanismen stimmten gut mit denen der natürlichen Aktivierung (EPSP) überein, welche durch einen Anstieg der Membranpermeabilität für Na^+ - und K^+ -Ionen zustandekommt.

Auch bezüglich der Frage, ob GABA im ZNS der Wirbeltiere eine inhibitorische Transmitterrolle ausübt, bestanden lange Zeit unterschiedliche Meinungen. Während ELLIOTT (1965) GABA für einen allgemein hemmenden Transmitter hielt, betrachteten CURTIS und WATKINS (1965) GABA-Wirkungen als unspezifische Effekte; sie waren der Meinung, dass diese Aminosäure nicht nur eine Affinität zu Rezeptoren des echten Transmitters, sondern auch zu anderen Molekülen der subsynaptischen neuronalen Membran besäße.

Neuere Untersuchungen ergaben jedoch, dass GABA - extrazellulär appliziert - die Membranleitfähigkeit von corticalen Pyramidenzellen (KRNJEVIC und SCHWARTZ 1967 b), Neuronen im Nucleus Deiter (OBATA u.a. 1967; ten BRUGGENCATE und ENGBERG 1969) sowie spinalen Motoneuronen (CURTIS u.a. 1968) für K^+ - und Cl^- -Ionen selektiv erhöht und dadurch hyperpolarisierend wirkt. Intrazelluläre Ableitungen aus diesen Strukturen haben erwiesen, dass das Gleichgewichtspotential für GABA hierbei dem der natürlichen synaptischen Hemmung entspricht; solche IPSP's entstehen nämlich durch die Einwirkung eines inhibitorischen Transmitters an der subsynaptischen Membran, welche zu einer starken Erhöhung der Permeabilität für Cl^- - und K^- -Ionen führt. Neuroglia-Zellen und Axone werden durch diese Aminosäuren nicht de- oder hyperpolarisiert; dies bedeutet, dass ihre Aktion auf

(post-)synaptische Strukturen beschränkt ist (KRNJEVIC und SCHWARTZ 1967 a).

Die Glutamat-Rezeptoren scheinen in der Retina besonders in der Somamembran lokalisiert zu sein; denn vorwiegend, wenn die Vielfachelektrode in Soma-Nähe der Ganglienzellen platziert war, konnten die typischen starken Gl-Erregungen mit schnellem Wirkungseintritt und rascher Reversibilität registriert werden (Abb. 15 A). In Fällen, wo die Elektrode besonders weit in den Dendritenbaum der Ganglienzellen vorgeschoben worden war, nahm die Spike-Amplitude und der Grad der Gl-Excitation ab (Abb. 15 B). Für GABA-Effekte galt diese Differenzierung nicht.

Der Antagonismus mit Gl, die Latenzverlängerung der on- bzw. der off-Excitation bei gleichzeitiger Verminderung der Reaktionsstärke, die Unterdrückung des antidromen Spikes sowie die Amplitudenzunahme der extrazellulär abgeleiteten Potentiale legen einen ähnlichen Wirkungsmechanismus des GABA an retinalen Ganglienzellen nahe, wie er von KRNJEVIC und SCHWARTZ an corticalen Neuronen beschrieben wurde. Dass die antidrome Reizantwort nur selten aufgehoben werden konnte, mag mit dem hohen Sicherheitsfaktor gegen diese Art von Erregung zusammenhängen. Die durch antidrome Reizung ausgelösten Potentiale der corticalen Betz-Zellen liessen sich durch GABA ebenfalls nur selten blockieren (CRAWFORD und CURTIS 1964). Die Kriterien der pharmakologischen und der chemischen Identität konnten in der Retina für Aminosäuren bisher noch nicht erfüllt werden; d.h., es gibt z.Zt. keine Substanzen, welche

die Wirkung der Aminosäuren auf retinale Ganglienzellen verstärken oder blockieren könnten. Erst in jüngerer Zeit wurde in Bicucullin ein Antagonist für GABA entdeckt (CURTIS u.a. 1971). Auch der Nachweis einer Abscheidung von Gl oder GABA von präsynaptischen Nervenendigungen nach visueller Reizung konnte bisher - vermutlich wegen der raschen Inaktivierung im Stoffwechsel - noch nicht erbracht werden. Aber trotz dieser Lücken ist eine physiologische Funktion des Gl/GABA-Systems wenn nicht als Neurotransmitter, so als Modulator in der Retina sehr wahrscheinlich. Als Modulatoren bezeichnet man dabei Substanzen, welche die neuronale Erregungsbereitschaft erhöhen oder herabsetzen. In diesem Sinne würde je nach dem metabolischen Zustand einer Zelle die Abscheidung von Gl oder GABA erfolgen, um die Erregbarkeit benachbarter Zellen zu beeinflussen - im Sinne einer homöostatischen Einrichtung.

2. Biogene Amine

2.1 Catecholamine (Dopamin und Noradrenalin) und D-Amphetamin

Tiere, denen Reserpin injiziert wurde, zeigen eine stark erhöhte Lichtempfindlichkeit, extreme Miosis und deutliche Ptosis (BOGDANSKI u.a. 1961). HÄGGENDAL und MALMFORS (1965) führten diese Photophobie auf den Ausfall eines aminergen, hemmenden Überträgersystems in der Retina zurück. Sie suchten deshalb mit fluoreszenzmikroskopischen Methoden nach adrenergen Neuronen in der Kaninchenretina. Als hauptsächlich vorhandenes Catecholamin fanden sie Dopamin (DA), das besonders in amakrinen

Zellen lokalisiert war. Noradrenalin (NA) konnte von diesen Autoren nur in der Chorioidea nachgewiesen werden. 16 Stunden nach intravenöser Reserpin-Gabe waren sowohl der DA-Gehalt der Retina als auch der NA-Gehalt der Chorioidea stark vermindert. Dieser Test, durch den die Catecholamin-Speicher entleert werden, könnte übrigens nach HEBB (1970) als Ersatz für das schwierig zu erfüllende Kriterium der Sammelbarkeit (d.h. der chemischen Identität) eines Transmitters betrachtet werden, wenn zusätzlich die Resynthese der Substanzen verhindert wird.

In neueren histochemischen Untersuchungen, die auch an Katzen durchgeführt wurden, zeigte sich, dass die innere plexiforme Schicht drei adrenerge Faserschichten enthält, von denen die beiden innersten allerdings nur spärlich ausgebildet sind. Zwar bestätigten pharmako-histochemische Experimente, dass die Mehrzahl der adrenergen Zellen in der Retina DA enthalten, einige jedoch NA (EHINGER 1966; EHINGER und FALCK 1969).

Die Wirkung des elektrophoretisch applizierten DA in der Retina hatte grosse Ähnlichkeit mit der von HERZ und ZIEGLGÄNSBERGER (1968) im Corpus striatum beschriebenen: Hemmung der Spontanaktivität und der visuellen Reizantwort, sowie die Verlängerung der Latenzen; der Antagonismus mit Glutamat; der rasche Wirkungseintritt und die manchmal auftretende Amplitudenvergrößerung unterschieden die DA-Effekte von unspezifischen Mechanismen der Zellstabilisierung, wie sie z.B. von Lokalanästhetika bekannt sind (CURTIS und PHILLIS (1960).

Diese Resultate beweisen den postsynaptischen Angriffsort des Dopamin in der Retina. Ebenso wie im Corpus striatum konnten in der Retina - im Gegensatz zu anderen Hirnregionen - nur inhibitorische DA- und NA-Effekte registriert werden. Aus der guten Übereinstimmung mit den durch GABA erzielten Wirkungen hatten HERZ und ZIEGLGÄNSBERGER geschlossen, dass auch die DA-Hemmung im Corpus striatum durch eine Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran verursacht werde. Auch für die retinalen DA-Effekte kann ein solcher Wirkungsmechanismus angenommen werden, zumal in einigen Fällen die antidrom ausgelösten Ganglienzellpotentiale durch DA unterdrückt werden konnten.

Der Nachweis einer durch Dopamin verursachten Hyperpolarisation durch intrazelluläre Ableitungen gelang bisher allerdings nur an Ganglienzellen von Schnecken (KERKUT und WALKER 1961).

Die dosisabhängige Amplitudenabnahme des evozierten Tractus-Opticus-Potentials P_1 nach L-Dopa-Injektion spricht ebenfalls für eine intraretinale inhibitorische Catecholamin-Wirkung. Evozierte Potentiale und das ERG wurden allgemein als Messgrößen für die Effekte pharmakologischer Substanzen verwendet. Von besonderem Interesse war hierbei die b-Welle des ERG's, die nach neueren Untersuchungen (MILLER und DOWLING 1970) hauptsächlich eine Glia-Zell-Reaktion (Müller'sche Stützzellen) darstellt. Weder L-Dopa (s. Ergebnisse) noch intramuskulär injiziertes Reserpin (GUTIERREZ und SPIGUEL 1971) veränderten die

Amplitude der b-Welle, d.h. monoaminerge Strukturen partizipierten nicht an der Entstehung der b-Welle; andererseits sind die synaptischen Endigungen der vertikalen Kette - Rezeptoren-Bipolare-Ganglienzellen - nach EHINGER (1966) nicht adrenerg. Diese Befunde, sowie die Konstanz der b-Welle des ERG's und die Amplitudenverminderung des evozierten Summenpotentials der T.O.-Fasern durch L-Dopa lassen darauf schließen, dass diese - ebenso wie die oben beschriebenen Reserpin-Effekte - durch Einwirkung auf Synapsen von Amakrinen zu Ganglienzellen hervorgerufen wurden.

Während die elektrophoretischen Experimente keine unterschiedlichen Wirkungen von DA und NA auf die verschiedenen neuronalen Reaktionstypen der Ganglienzellen erbrachten, berichteten AMES und POLLEN (1969), dass sowohl DA als auch NA in der isolierten Kaninchenretina on- und 'on-off'-center-Zellen hemmen, off-center-Einheiten dagegen aktivieren würden. Die von diesen Autoren beschriebene Parallelität der DA- und NA-Effekte konnte jedoch auch iontophoretisch durch den direkten Vergleich beider Substanzen an einzelnen Ganglienzellen bestätigt werden; sie lässt vermuten, dass beide Catecholamine am gleichen Rezeptor angreifen.

Intraarterielle Injektionen von NA und Amphetamin verursachten teils Erregung, teils Hemmung der Spontanaktivität retinaler Ganglienzellen (STRASCHILL 1968). Im Hinblick auf die Tatsache, dass die zentralen Amphetaminwirkungen nach HANSON (1967) durch Catecholamine vermittelt werden, besteht die Möglichkeit, dass Amphetamin adrenerge Rezeptoren nicht direkt akti-

viert, sondern indirekt durch Catecholamin-Abscheidung von den Nervenendigungen. Die Befunde von STRASCHILL, welche nicht in Einklang mit den elektrophoretisch gewonnenen Ergebnissen stehen, könnten auf Substanzwirkungen distal der Ganglienzellen beruhen. Die Hemmung der Ganglienzellaktivität durch Amphetamin-Phorese, die einen sehr langsamen Zeitverlauf hatte und des öfteren mit einer Abnahme der Spike-Amplitude verbunden war, könnte jedoch auch durch einen unspezifischen, lokal-anästhetischen Effekt auf die Ganglienzellmembranen hervorgerufen worden sein.

2.2 Serotonin (5-Hydroxytryptamin)

Während in den meisten anderen Hirnregionen Serotonin (5-HT) mit histochemischen Methoden nachgewiesen werden konnte (DAHLSTRÖM 1969), gibt es für die Retina bisher noch keine gesicherten Befunde. Säulenchromatographisch und spectrophotofluorometrisch untersuchte Netzhäute von Kaninchen und Ratten enthielten kein 5-HT (HÄGGENDAL und MALMFORS 1965); dagegen fand WELSH (1964) durch chemische Analyse und Bioassay signifikante Mengen dieser Substanz in der Retina des Kaninchens und des Frosches, ohne jedoch genauere Angaben über die Lokalisation machen zu können. Nach BAKER und QUAY (1969) scheint 5-HT in der embryonalen und postnatalen Entwicklung niederer Wirbeltiere eine Rolle zu spielen: Im Indol-Metabolismus entsteht Melatonin, das bei der photometrischen Reaktion benötigt wird. In der Retina ausgewachsener, höherer Wirbeltiere soll dieses Amin nach diesen Autoren nicht vorhanden sein.

Hinweise auf eine mögliche Bedeutung des 5-HT in der intra-retinalen Impulsübertragung ergaben die Untersuchungen von STRASCHILL (1968), der eine sehr starke Verminderung der spontanen und Licht-induzierten Aktivität nach intraarterieller Injektion von 5-HT-Creatininsulfat bei der Katze beschrieb. Die Ergebnisse der ersten 5-HT-Phoreseserie schienen diese Ergebnisse nicht zu bestätigen (STRASCHILL und PERWEIN 1969). Allerdings wäre es möglich, dass die schlechten Löslicheitseigenschaften des 5-HT-Creatininsulfatkomplexes (ENGBERG und RYALL 1966), sowie die von mehreren Autoren berichtete pharmakologische Eigenwirkung dieser Trägersubstanz die Ergebnisse verfälscht hatten. So übte elektrophoretisch appliziertes Creatinin eine inhibitorische Wirkung auf corticale Neurone aus (KRNJEVIC 1964), während es in anderen Hirnregionen, wie z.B. dem Hirnstamm, excitatorisch wirkte (BRADLEY und WOLSTENCROFT 1965). Das aus diesen Gründen von den meisten Arbeitsgruppen verwendete Bimaleinat erwies sich dagegen als pharmakologisch indifferent (ROBERTS und STRAUGHAN 1967).

Weiterhin mag in der ersten 5-HT-Phoreseserie ein Einfluss der Barbiturat-Narkose auf die neuronale Erregbarkeit von Bedeutung gewesen sein. So fanden CURTIS und DAVIS (1962) nur hemmende 5-HT-Effekte im Corpus geniculatum laterale Barbiturnarkotisierter Katzen, während SATINSKY (1967) bei nicht narkotisierten Katzen auch aktivierende Wirkungen beschrieb. Ebenso stellten KRNJEVIC und PHILLIS (1963) nur Hemmung durch 5-HT an corticalen Neuronen der Katze fest, während ROBERTS und STRAUGHAN (1967) bei 'encéphale isolé'-Präparationen in

30 % Aktivierungen fanden. Diese Autoren bestätigten auch, dass die zusätzliche Injektion kleiner Mengen eines Thio-Barbiturates die Sensitivität einiger Neurone für eine exzitatorische 5-HT-Wirkung selektiv und reversibel reduziert.

In der zweiten Versuchsserie mit nicht narkotisierten Tieren wurden bei Verwendung von 5-HT-Bimaleinat etwa 80 % der getesteten Ganglienzellen inhibiert. Der Nachweis einer erregenden Wirkung war nur äusserst selten gelungen; dies steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von AMES und POLLEN (1969), die in der isolierten Retina ausschliesslich Aktivierungen durch 5-HT beobachteten. Allerdings verwendeten diese Autoren den 5-HT-Creatininsulfat-Komplex.

Hervorzuheben ist auch der Zeitverlauf der 5-HT-Hemmung: Der Wirkungseintritt erfolgte nach etwa $0,4-1$ sec, das Maximum war nach 8-20 sec erreicht, und die Erholung erfolgte nach Abschaltung des 5-HT-Stromes in einem ähnlichen Zeitverlauf, wobei die Zeit umgekehrt proportional der Dosierung war. Niemals konnte der äusserst langsame Zeitverlauf, wie er an spinalen Interneuronen beschrieben wurde (WEIGHT und SALMOIRAGHI 1966) oder ein gemischter Effekt, d.h. eine initiale Erregung mit nachfolgender Hemmung durch 5-HT (ROBERTS und STRAUGHAN 1967) registriert werden. In seltenen Fällen folgte allerdings einer Aktivitätsverminderung, die erst nach langer Latenz einsetzte, nach Abschalten des Stromes eine exzessive Steigerung der Entladungsrate. Dieses 'double response pattern' (WEIGHT und SALMOIRAGHI 1966) dürfte auf einen unspezifischen Membraneffekt zurückzuführen sein, da es auch ab und zu bei Stromkontrollen (kationischer Strom) beobachtet werden konnte. Dagegen kamen

die sehr langen Nacheffekte - bei raschem Wirkungseintritt -, wie sie bei iontophoretischen 5-HT-Applikationen an Neuronen des Colliculus superior und der mesencephalen Formatio reticularis beschrieben wurden (STRASCHILL und PERWEIN 1971) in der Retina nicht vor.

Für eine spezifische Rolle des 5-HT in der synaptischen Übertragung in der Netzhaut sprechen die vergleichenden Applikationen von GABA, DA, NA und 5-HT; denn hierbei schien die Wirkung des 5-HT unabhängig von der der anderen Substanzen zu sein (PERWEIN und STRASCHILL 1974). Besonders eindrucksvoll waren in diesem Zusammenhang zwei Ganglienzellen, die vorwiegend tonisch durch Dunkelreize aktiviert wurden; die Aktivität beider Zellen konnte selektiv durch 5-HT, aber überraschenderweise auch durch ipsilaterale taktile Reize der Vorderpfote des Tieres gehemmt werden. Diese Befunde werfen erneut die Frage nach möglichen retinopetalen Efferenzen in der Retina auf (SPINELLI und WEINGARTEN 1966).

MOURIZ-GARCIA u.a. (1969) hatten einen geringen Anstieg der spontanen und Licht-induzierten Aktivität retinaler Ganglienzellen nach intravenöser Gabe von LSD-25 beobachtet. Auch AMES und POLLEN (1969) hatten eine Aktivitätserhöhung nach Zusatz von LSD in das Inkubationsmedium registriert. Diese Befunde entsprechen - im Zusammenhang mit der festgestellten Hemmwirkung des 5-HT - dem in peripheren Strukturen nachgewiesenen Antagonismus zwischen diesen beiden Substanzen. Ob dieser Gegensatz auch für zentrale Strukturen gilt, ist noch nicht entschieden.

Ähnlich dem Dopamin ist auch für Serotonin der Beweis einer Transmitterfunktion im ZNS der Wirbeltiere noch nicht sicher erbracht. Lediglich an CILDA-Neuronen von Mollusken scheint eine excitatorische Transmitterrolle des 5-HT gesichert (GER-SCHENFELD und STEFANI 1968).

2.3 Acetylcholin (ACh)

Bereits vor fast 50 Jahren entdeckten ADRIAN und MATTHEWS (1928) das rhythmische retinale Entladungsmuster nach Strychnin-Gabe. HEISS (1967) und STRASCHILL (1968), sowie AMES und POLLEN (1969) beschrieben ebenfalls diesen typischen Strychnin-Effekt. MCKINSTRY und KOELLE (1967) zeigten, dass Strychnin die Abscheidung des ACh von cholinergen Fasern blockiert und deuteten die Steigerung der retinalen Entladungsrate als Disinhibition.

KOELLE versuchte daraufhin, die Lokalisation der Acetylcholinesterase (AChE) in der Retina zu bestimmen, da ACh selbst bisher histochemisch nicht nachweisbar ist. Bei der Katze war dieses Enzym hauptsächlich, wenn nicht sogar ausschliesslich auf amakrine Zellen beschränkt (NICHOLS und KOELLE 1968).

Intraarterielle Injektionen von ACh (STRASCHILL 1968) und Zugabe von Cholinomimetica in das Inkubationsmedium der isolierten Retina ergaben sowohl excitatorische als auch inhibitorische Effekte auf die Ganglienzellaktivität (AMES und POLLEN 1969). Frühere iontophoretische Untersuchungen (NOELL und

LASANSKY 1959) mit ACh, Prostigmin, Nicotin und Procain hatten jedoch nur geringen Einfluss auf die spontane und Licht-induzierte Aktivität von Ganglienzellen. Die relative Unempfindlichkeit dieser Zellen auf die getesteten Substanzen ging jedoch mit einer hohen Sensibilität für Stromeffekte einher. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen demgegenüber eine deutliche Beeinflussung der Ganglienzellentladungen durch ACh (STRASCHILL und PERWEIN 1973): Die starke Zunahme ACh-empfindlicher Neurone nach Injektion eines Acetylcholinesterase-Hemmers (Physostigmin) und der raschere Wirkungseintritt bei Verschieben der Elektrode in die innere plexiforme Schicht lassen dabei eher auf einen Wirkort des ACh an den axo-dendritischen Synapsen als an der Soma-Membran der Ganglienzellen schliessen (Abb. 1). Durch die Ergebnisse der Iontophorese kann jedoch nicht differenziert werden, ob ACh physiologisch durch Terminale der Bipolaraxone oder durch Fortsätze der Amakrinen ausgeschieden wird. Die Ergebnisse der oben erwähnten histochemischen Untersuchungen, welche die cholinerge Natur amakriner Zellen bewiesen, sprechen für letztere Möglichkeit. Da AChE in Bipolarzellen und deren Axonen nicht vorhanden ist, können die registrierten ACh-Effekte nicht indirekt durch Aktivierung von erregenden bzw. hemmenden cholinozeptiven Amakrinen verursacht worden sein. Gegen einen unspezifischen Effekt spricht die unterschiedliche Wirkung des ACh auf die beiden Ganglienzell-Reaktionstypen, d.h. Erregung der off-center- und Hemmung der on-center-Zellen. Ein solcher Dualismus wurde in den pharmakologischen Studien der Katzen- (STRASCHILL 1968)

und Kaninchenretina (AMES und POLLEN 1969) nicht beschrieben. Allerdings sind detaillierte Vergleiche mit den Resultaten der Iontophorese schwierig, da zusätzliche unspezifische Wirkungsmöglichkeiten bestehen, wenn Cholinomimetica systemisch injiziert oder dem Inkubationsmedium zugegeben werden. Während ACh-Wirkung an Renshaw-Zellen sehr schnell einsetzt und nach kurzer Zeit ihr Maximum erreicht (CURTIS und RYALL 1966a und b), entspricht der Zeitverlauf in der Retina eher dem, wie er für corticale (CRAWFORD und CURTIS 1966; KRNEVIC und PHILLIS 1963), Hippocampus- (BISCOE und STRAUGHAN 1966) und Hirnstamm-Neurone (BRADLEY u.a. 1966) beschrieben wurde.

Auch der beobachtete biphasische Effekt - d.h. eine Excitation, welcher eine kurzzeitige Inhibition vorausgeht - ist an corticalen und medullären Zellen registriert worden (CRAWFORD und CURTIS 1966; BRADLEY u.a. 1966). Dass in einigen Experimenten die excitatorische Wirkung nach wiederholten ACh-Applikationen abnahm und schliesslich sogar ganz ausblieb, ist wahrscheinlich durch Tachyphylaxie zu erklären. Diese zunehmende Unempfindlichkeit der Zellen ist eine spezielle Art der Toleranz und wurde bereits an Strukturen beobachtet, wo ACh als Transmitter gilt: KATZ und THESLEFF (1951) entdeckten diesen Effekt bei wiederholter ACh-Phorese an der motorischen Endplatte. Als Erklärung wurde die Bildung eines intermediären Substanz-Rezeptor-Komplexes und die Kinetik der Rezeptor-Interaktion vorgeschlagen. CURTIS und RYALL (1966a) unterschieden im Renshaw-Zellsystem eine spezifische von einer unspezifischen

Tachyphylaxie; letztere wurde als zusätzlicher Empfindlichkeitsverlust der Zellen gegenüber der Wirkung einer erregenden Aminosäure (DL-Homocysteinsäure) definiert. In der Retina wurde nur eine spezifische Tachyphylaxie festgestellt.

Obwohl DALE (1914) lediglich die Effekte cholinomimetischer Substanzen in 'muskarinisch' und 'nikotinisch' eingeteilt hatte, werden diese Begriffe seit längerem auch zur Charakterisierung der Rezeptoren, mit denen sich diese Pharmaka bzw. deren Antagonisten verbinden, verwendet. Atropin wird allgemein (DALE 1914) als spezifischer Antagonist von Cholinomimetica an muskarinischen Rezeptoren betrachtet, da es nur geringe Effekte an nikotinischen Rezeptoren besitzt.

Bei iontophoretischer Gabe (s. Ergebnisse) wird die Wirksamkeit von Atropin durch eine Verminderung der elektrischen Erregbarkeit der Zellmembranen überlagert (CURTIS und PHILLIS 1960); daher wird es gewöhnlich in niedriger Dosierung intravenös injiziert, obwohl es die Blut-Hirn-Schranke nicht besonders gut zu durchdringen vermag (CURTIS und RYALL 1966 b).

Die selektive Blockierung der ACh-Erregung durch die Injektion von Atropin lässt also darauf schliessen, dass die excitatorischen Reaktionen in der Retina vorwiegend durch muskarinische Rezeptoren vermittelt werden. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen hemmte Atropin die Erregung retinaler Ganglienzellen nach intraarterieller ACh-Injektion, ohne jedoch die starke Inhibition der on-center-Zellen durch ACh zu beeinflussen (STRASCHILL 1968). Die Unwirksamkeit von Blockersubstanzen nikotinischer und muskarinischer Rezeptoren auf

diese inhibitorischen Effekte scheint die eingangs erwähnte Hypothese von NICHOLS und KOELLE (1968) zu unterstützen:

Diese Autoren nehmen an, dass die Freisetzung von ACh aus Terminalen amakriner Zellen die Abscheidung eines nicht-cholinergen, inhibitorischen Transmitters auslöst (BURN und RAND 1965) und dass dieser Schritt durch Strychnin blockiert wird (KOELLE 1969). Die Wirkung der Curare-ähnlichen Substanz Dihydro- β -erythroidin auf retinale Ganglienzellen ist demnach von dem spezifischen Antagonismus mit ACh zu differenzieren, der von CURTIS und RYALL (1966 a und b) an Renshaw-Zellen festgestellt wurde.

In Analogie zum Cortex scheinen die Rezeptoren für excitatorische ACh-Wirkungen in der Retina muskarinischer Natur zu sein; während dort Inhibition überwiegend an nikotinische Rezeptoren gebunden ist, könnte in der Retina ein cholinerges Zwischenglied in der - möglicherweise - adrenergen Übertragung bestehen (BURN und RAND 1965).

Die funktionelle Bedeutung des Acetylcholins in der retinalen Mustererkennung kann aus den Resultaten der Iontophorese nicht eindeutig abgeleitet werden und bleibt weitgehend spekulativ. Übertragen auf die rezeptive Feld-Organisation wirkt ACh wie ein 'Dunkelreiz' auf das Zentrum der off-center- bzw. ein 'Lichtreiz' auf die Peripherie von on-center-Zellen; d.h., es könnte die off-Erregung der off-center- und off-Hemmung der on-center-Ganglienzellen bewirken. ACh könnte jedoch auch die 'laterale Erregung' der off-center- und 'laterale Hemmung' der on-center-Einheiten vermitteln.

Die letztere Möglichkeit scheint wahrscheinlicher zu sein, da allgemein angenommen wird, dass die Amakrinen als cholinerge Strukturen (NICHOLS und KOELLE 1968) an der Umfeldreaktion der Ganglienzellen mitwirken (GALLEGO 1965; GRÜSSER 1971). Eine funktionelle Verbindung des ACh mit dem Peripherie-Mechanismus (Abb. 18) wäre gut vereinbar mit der Tatsache, dass Atropin weder die spontane noch die lichtinduzierte Aktivität der Ganglienzellen beeinflussen konnte, während es die excitatorischen ACh-Effekte deutlich hemmte; denn eine Verminderung des normalerweise schwachen Peripherieeinflusses durch Atropin würde die Reaktion der off-center-Neurone auf diffuse Lichtreize (WIESEL 1960), welche in diesen und den früheren pharmakologischen Untersuchungen verwendet wurden, nicht signifikant verändern.

3. Schlussfolgerungen

Ausgehend von den Ergebnissen der iontophoretischen Untersuchungen lässt sich in einem zusammenfassenden Schema (Abb. 18) die synaptische Verschaltung in der inneren plexiformen Schicht für on- und off-center-Ganglienzellen folgendermassen darstellen: Bei on-Zentrum-, off-Peripherie-Zellen würde eine Stimulierung des rezeptiven Feldzentrums die Ganglienzellen über direkte Bipolar-Ganglienzell-Kontakte erregen. Der betreffende Transmitter ist noch unklar; möglicherweise könnte dies eine erregende Aminosäure (z.B. Glutaminsäure) sein (Abb. 18 A). Stimulierung der Feld-Peripherie würde die Ganglienzellen über Amakrine-Ganglienzell-Synapsen hemmen. Dies

könnte direkt durch Acetylcholin oder indirekt nach Freisetzung von GABA oder Dopamin geschehen.

Diese antagonistischen Zentrum- und Peripherie-Effekte summieren sich bei Reizung des gesamten Feldes zu dem in Abb. 2 gezeigten Empfindlichkeitsprofil einer on-center-Ganglienzelle. Umgekehrt wäre die Verschaltung einer off-Zentrum-, on-Peripherie-Ganglienzelle (Abb. 18 B): Hier würde eine Stimulierung des Zentrums über eine Bipolar-Ganglienzell-Verbindung Inhibition hervorrufen; diese könnte durch Dopamin oder GABA vermittelt werden. Stimulierung der Peripherie würde durch erregende Amakrine-Ganglienzell-Synapse verschaltet werden; der excitatorische Transmitter könnte Acetylcholin sein.

V. ZUSAMMENFASSUNG

An 96 Katzen wurden extrazelluläre Aktionspotentiale von insgesamt 885 Ganglienzellen abgeleitet und die Wirkungen verschiedener Aminosäuren und biogener Amine auf die spontane und durch diffuse Lichtreize induzierte Aktivität mit Hilfe der Iontophorese untersucht:

1. Glutamat und γ -Aminobuttersäure aktivierten bzw. hemmten praktisch alle getesteten Ganglienzellen in Dosen von 20-60 nA; zwischen beiden Substanzen konnte der typische antagonistische Effekt nachgewiesen werden.

2. Catecholamine und 5-Hydroxytryptamin wirkten in Dosen von 20-120 nA fast immer hemmend auf die Entladungsrate der Ganglienzellen. Quantitative Unterschiede konnten durch Testung mehrerer Substanzen an gleichen Zellen verifiziert werden: Dopamin (und GABA) waren am stärksten, Serotonin und Noradre-

naline etwas schwächer wirksam. Serotonin hemmte allerdings nur bei Verwendung von Bimaleinat als Trägersubstanz, der 5-HT-Creatininsulfat-Komplex war dagegen kaum wirksam.

Einzelfälle selektiver Wirkungen der geprüften Substanzen deuten auf eigene Rezeptoren für Catechol- und Indolamine hin. Für eine physiologische Rolle des Dopamin im synaptischen Übertragungsprozess spricht die Verkleinerung des evozierten Tractus-Opticus-Potentials durch intravenöse Injektion von L-Dopa, der metabolischen Vorstufe des Dopamin. Microiontophoretisch appliziertes Amphetamin hemmte zwar die Ganglienzellaktivität, doch könnte dieser Effekt durch unspezifische Membranprozesse bedingt sein.

3. Acetylcholin zeigte eine selektive Wirkung auf on- und off-center-Ganglienzellen: Erstere wurden gehemmt, letztere aktiviert. Vorbehandlung der Versuchstiere durch eine intravenös injizierten Acetylcholinesterasehemmer (Physostigmin) verstärkte diese Effekte deutlich. Atropin blockierte - intravenös injiziert - die excitatorische Reaktion auf Acetylcholin, jedoch nicht die inhibitorische. Nach Injektion der Curare-artigen Substanz Dihydro- β -erythroidin blieb die ACh-Empfindlichkeit der Zellen unverändert bestehen.

4. Die Untersuchungen zeigten also, dass Substanzen, die in der Retina histochemisch nachgewiesen wurden, eine deutliche - im Falle des Acetylcholin sogar eine funktionsspezifische - Wirkung auf retinale Ganglienzellen besitzen. Sie tragen damit zur Erfüllung des für eine Transmitterfunktion geforderten Kriteriums der physiologischen Identität bei.

VI. ABBILDUNGEN und TABELLEN

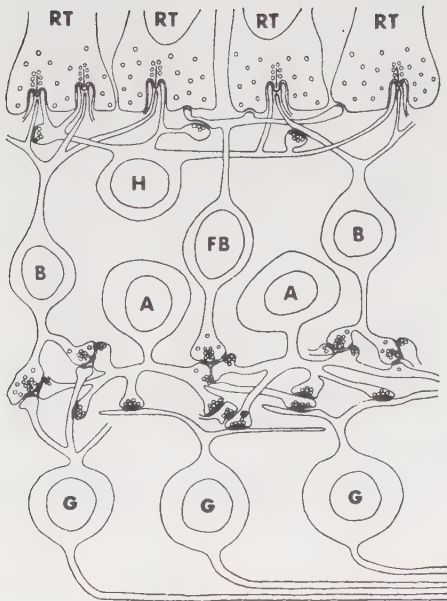


Abb. 1: Vereinfachte Darstellung der synaptischen Organisation in der Wirbeltier-Retina.

Symbole: RT: Rezeptoren; H: Horizontalzellen;

B bzw. FB: 'invaginating'-bzw. 'flat'-Bipolarzellen;

A: Amakrine Zellen; G: Ganglienzellen.

(Nach: DOWLING und WERBLIN 71).

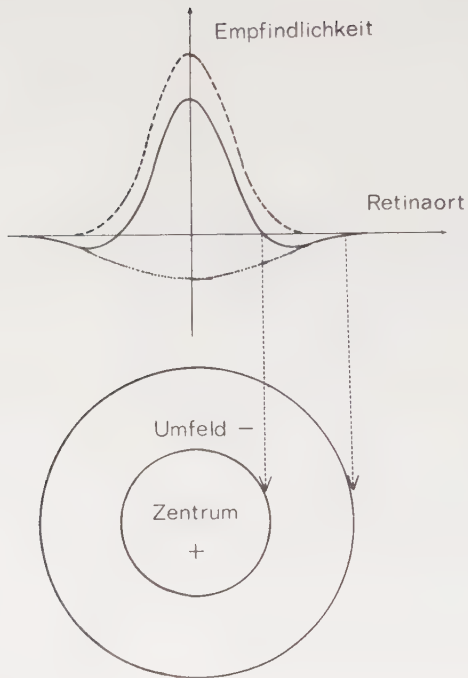


Abb. 2: Empfindlichkeitsprofil der rezeptiven Felder einer on-center Ganglienzelle; Darstellung der konzentrischen, antagonistischen Zentrum-Umfeld-Organisation.

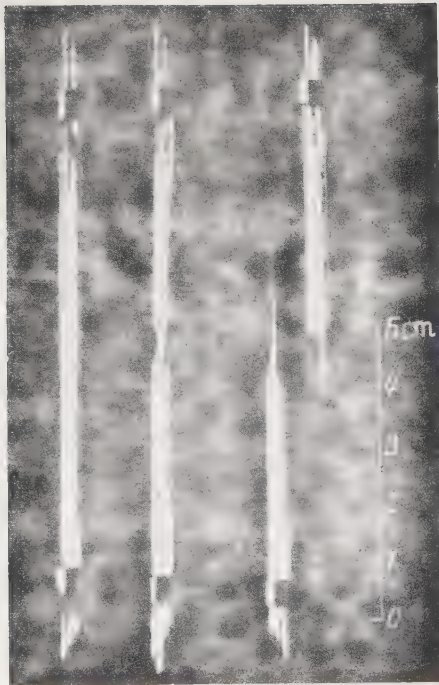


Abb. 3: Masstabgerechte Aufnahme der verwendeten Vierfach-Iontophorese-Elektroden (Einzelheiten s. Text).

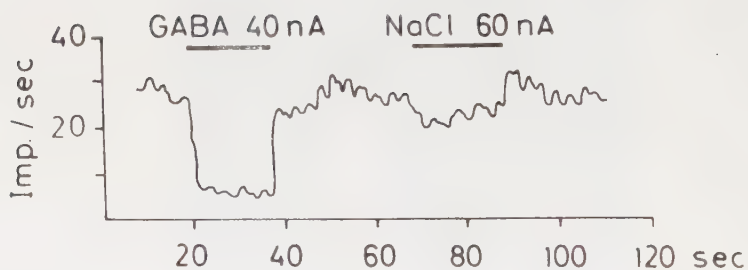


Abb. 4: Wirkung von GABA auf die Spontanaktivität einer Ganglienzelle. Registrierung der Entladungsrate durch ein Ratemeter. Die waagrechten Balken geben die Dauer der GABA- bzw. Natriumchlorid-Phorese wieder.

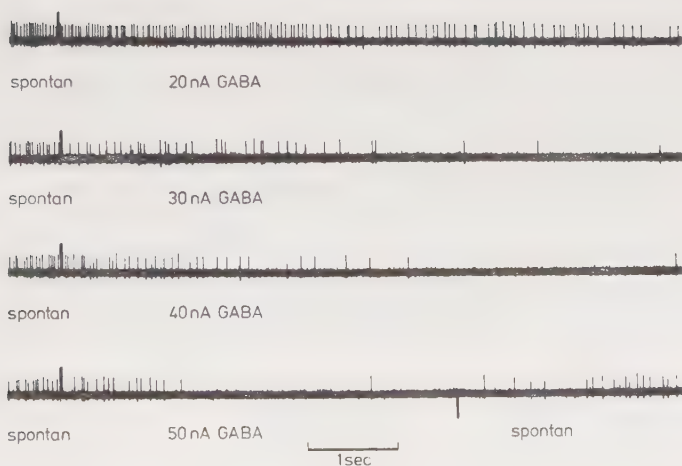


Abb. 5: Wirkung steigender GABA-Dosen auf die Spontanaktivität einer Ganglienzelle: Zunehmend schnellerer Wirkungseintritt bei gleichzeitiger Abnahme der Entladungsrates. Die Ein- und Ausschaltartefakte des GABA-Stromes sind deutlich erkennbar.

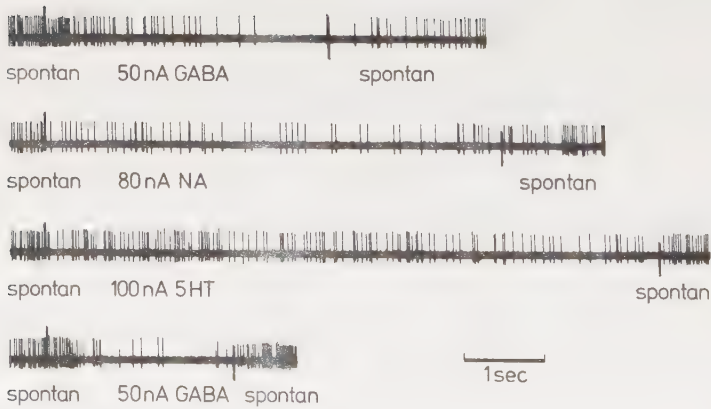


Abb. 6: Wirkung von GABA, Noradrenalin und Serotonin auf die Spontanaktivität einer retinalen Ganglienzelle. Es bestehen deutliche quantitative Unterschiede in den inhibitorischen Effekten. Symbole wie in Abb. 5.

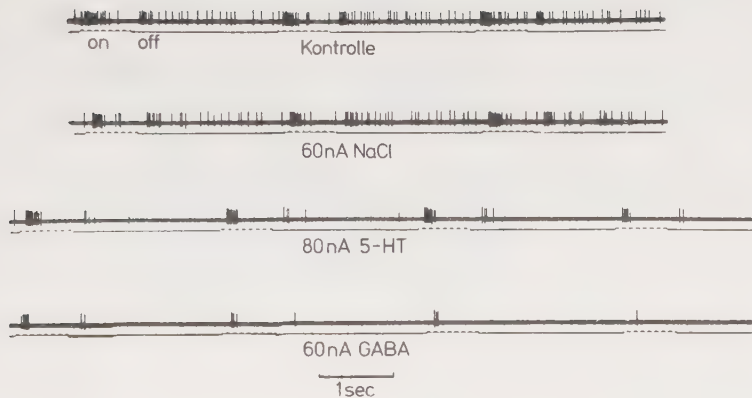


Abb. 7: Wirkung von Serotonin (5-HT) und GABA auf die Lichtreaktion einer on- (off-)Ganglienzelle. Die Einzelabbildungen sind Ausschnitte der jeweiligen Filmaufnahmen. Die gestrichelten und durchgehenden Linien unter den Registrierungen bedeuten 'Licht an' bzw. 'Licht aus'.

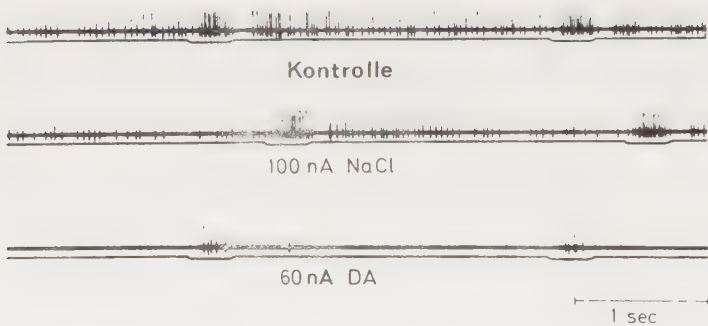


Abb. 8: Wirkung von Dopamin (DA) auf die spontane und Licht-induzierte Aktivität einer retinalen on- (off-) Ganglienzelle. Zum Vergleich ist die Wirkung von kationischem Strom (NaCl) dargestellt. Die Photozellsignale unter den Registrierungen kennzeichnen Beginn und Ende der Lichtreizung.

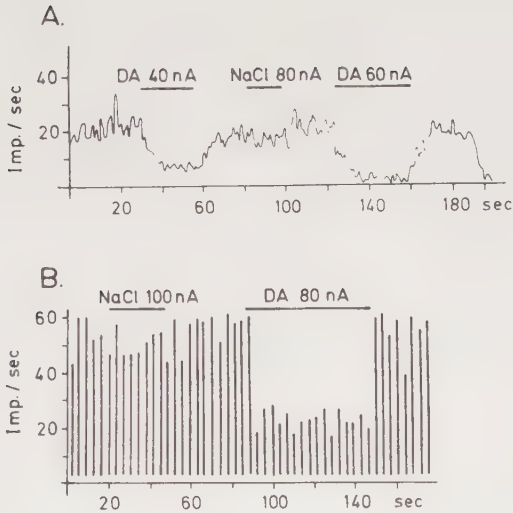


Abb. 9: Wirkung von Dopamin (DA) auf retinale Ganglienzellen. Es wurde fortlaufend die Entladungsrates registriert. Die waagrechten Balken entsprechen der Dauer der Phoreseseitröme.

A) Dosisabhängige Hemmung der Spontanaktivität durch DA. Kationischer Strom hat fast keinen Effekt.

B) Hemmung der Licht-induzierten Aktivität durch DA. Die senkrechten Balken bedeuten die gemittelte Entladungsfrequenz einer Zelle während intermittierender diffuser Lichtreize.

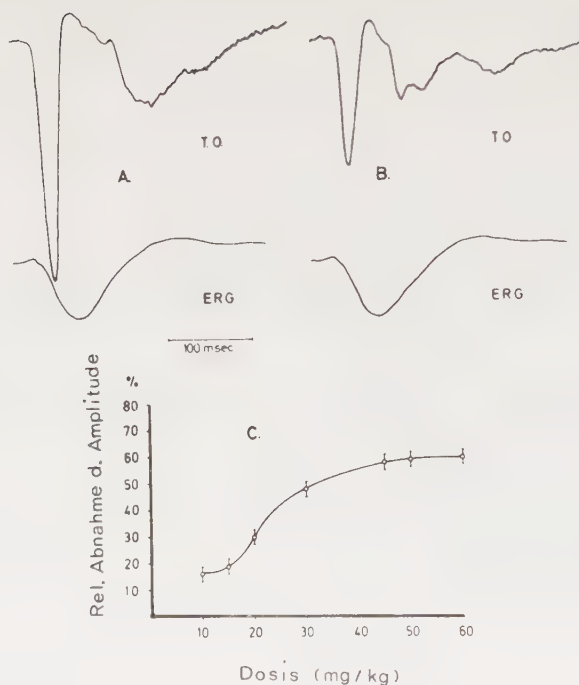


Abb. 10: Wirkung von L-Dopa auf die durch diffuse Lichtreize evozierten Potentiale des Tractus Opticus. Gemittelte Tractus-Opticus-Potentiale (T.O.) und Elektretinogramme (ERG) vor (A) und 30 min nach (B) intravenöser Injektion von 30 mg/kg L-Dopa. Positivität ist nach unten gerichtet, Negativität nach oben. C) Dosis-Wirkungskurve. Abszisse: Relative Amplitudenabnahme des evozierten Potentials P_1 nach L-Dopa-Gabe gegenüber Kontrollwerten. Ordinate: Injizierte Einzeldosis von L-Dopa. Die aufgetragenen Kreise bedeuten die Durchschnittswerte, die senkrechten Balken die Varianzen von jeweils drei Experimenten.

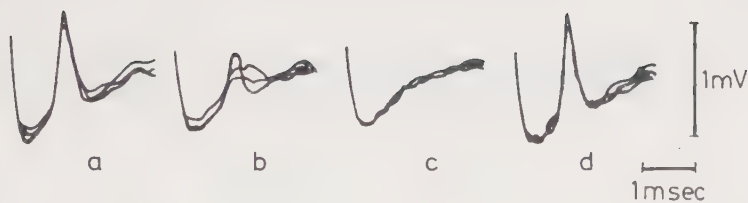


Abb. 11: Wirkung von Dopamin auf die antidrome Reizung retinaler Ganglienzellen. Jede Aufnahme besteht aus drei superponierten Reaktionen auf einen submaximalen, elektrischen Reiz, mit dem die Papilla nervi optici stimuliert wurde (Frequenz 1/sec). Die Reizeinbrüche sind am Beginn der Registrierungen deutlich zu erkennen. Polarität wie in Abb. 10.

a) Kontrolle; b) Reaktionen nach 10 sec DA-Strom (150 nA); c) Reaktionen nach 20 sec DA-Phorese; d) Antidromer Spike nach Beendigung der DA-Applikation.

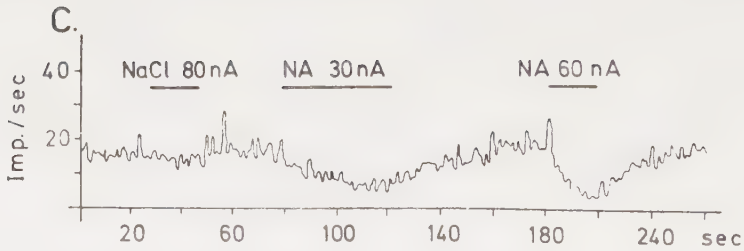


Abb. 12: Verminderung der Spontanaktivität eines retinalen Neurons durch Noradrenalin (NA). Dosiserhöhungen haben eine deutliche Wirkungszunahme zur Folge. Kationischer Strom (NaCl) hat keinen Effekt. Symbole wie in Abb. 4.

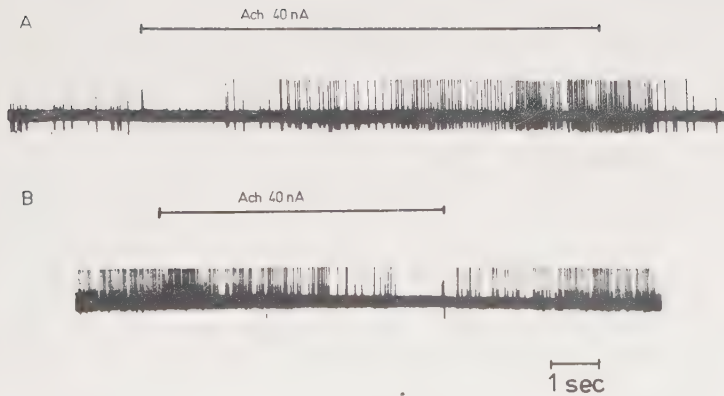


Abb. 13: Wirkung von 40 nA Acetylcholin (ACh) auf die Spontanaktivität von zwei retinalen Ganglienzellen.

A) Erregung eines off-center-Neurons.

B) Hemmung eines on-center-Neurons.

Die Länge des Balkens entspricht der Applikationsdauer.

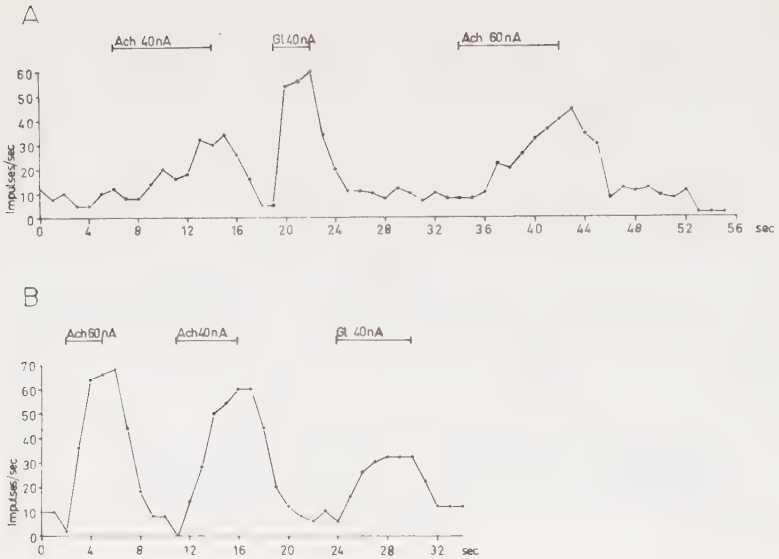


Abb. 14: Graphische Darstellung der erregenden Wirkung von Acetylcholin (ACh) und Glutamat (Gl) auf die Spontanaktivität von zwei off-center-Neuronen.

A) Langsamer ACh-Reaktionstyp;

B) Rascher ACh-Reaktionstyp.

Symbole wie in Abb. 4

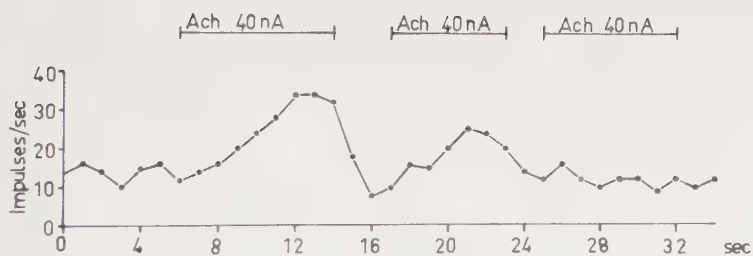


Abb. 15: Verminderung der excitatorischen Reaktion eines off-Zentrum-Neurons durch wiederholte Acetylcholin-Phorese (Tachyphylaxie-Effekt).

Symbole wie in Abb. 4.

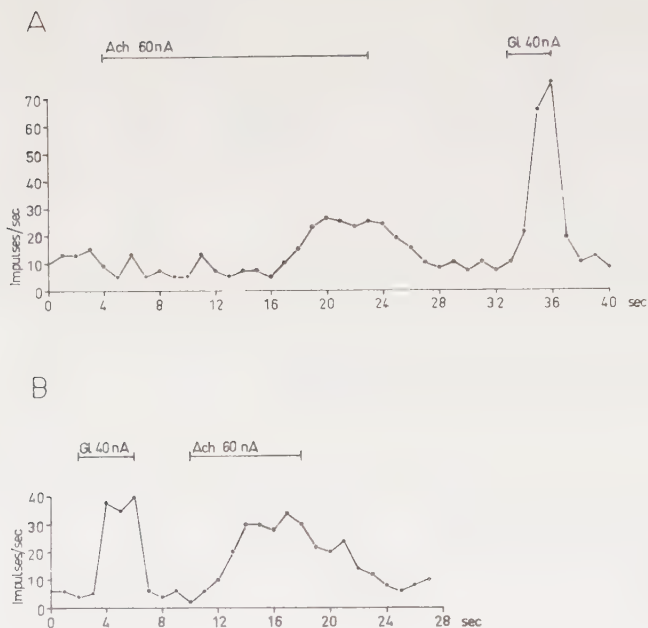


Abb. 16: Einfluss der Position der Vielfachelektrode auf die Latenz und Stärke der excitatorischen ACh-Wirkung bei einer off-center-Zelle. Die Reaktion vom Typ A ging in Typ B über, wenn die Elektrode von der Ganglienzellschicht in die innere plexiforme Schicht vorgeschoben wurde. Man beachte die Latenzverminderung und Verstärkung der ACh-Wirkung, die mit einer Abschwächung des Glutamat-Effektes verbunden ist.

Symbole wie in Abb. 4.

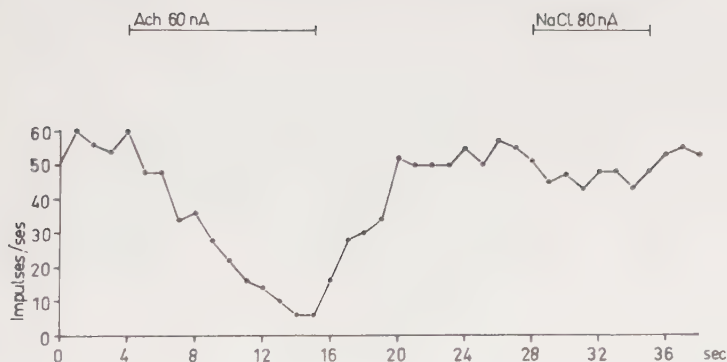


Abb. 17: Inhibitorische Wirkung von Acetylcholin (ACh) auf die Spontanaktivität einer retinalen on-center-Zelle. Kationischer Stromfluss (Na^+) hat nur einen geringen Effekt. Symbole wie in Abb. 4.

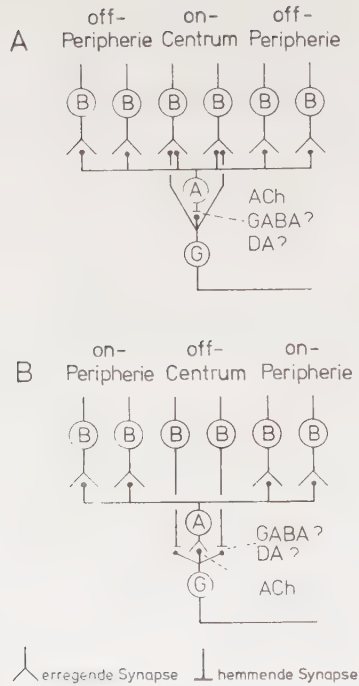


Abb. 18: Schematische Darstellung der synaptischen Organisation in der inneren plexiformen Schicht.

A) On-Zentrum-, off-Peripherie-Ganglienzelle;

B) Off-Zentrum-, on-Peripherie-Ganglienzelle.

Symbole: B: Bipolare; A: Amakrine; G: Ganglienzellen.

Tab. 1: Wirkung von jeweils drei Testsubstanzen auf die Aktivität von insgesamt 80 Ganglienzellen.

Die Vierfachelektroden enthielten:

- a) GABA, Noradrenalin und Serotonin bzw.
- b) GABA, Dopamin und Serotonin.

Die Reaktion der Neurone ist durch folgende Symbole dargestellt: ---: sehr starke Hemmung; --: starke Hemmung; -: leichte Hemmung; +: leichte Aktivität; Ø: kein Effekt.

Substanz	Zahl der Neurone								Gesamt
	8	5	5	4	3	3	2	1	31
GABA	--	--	--	--	--	--	--	--	
NA	(-)	-	(-)	Ø	Ø	-	-	--	
5-HT	-	-	--	Ø	-	Ø	--	-	

Substanz	Zahl der Neuronen																Gesamt
	6	5	5	5	5	4	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1	48
GABA	-	-	--	-	-	(-)	--	--	-	Ø	--	Ø	--	--	-	-	
DA	(-)	Ø	--	--	--	Ø	-	(-)	(-)	--	--	Ø	(-)	-	-	+	
5-HT	Ø	Ø	-	--	-	-	-	Ø	--	-	-	--	-	--	-	+	

Tab. 2: Wirkung von Acetylcholin auf die Spontanaktivität retinaler Ganglienzellen vor und nach intravenöser Injektion von 0,15 mg/kg Physostigmin (ACh + Eserin). Die Ziffern bedeuten die Anzahl der getesteten Neurone.

Symbole: $\emptyset$: keine oder fragwürdige Reaktion; +: Erregung; -: Hemmung.

	on-center			off-center			on-off			total
	$\emptyset$	-	+	$\emptyset$	-	+	$\emptyset$	-	+	
ACh	5	9	-	12	1	3	25	3	5	63
ACh + Eserin	1	27	-	5	2	46	6	1	6	94

Tab. 3: Wirkung von Acetylcholin auf die Aktivität retinaler Ganglienzellen vor und nach zusätzlicher intravenöser Injektion von 0,2 mg/kg Atropin (ACh + Eserin + Atropin).

Symbole wie in Tab. 2.

	on-center			off-center			on-off			total
	Ø	-	+	Ø	-	+	Ø	-	+	
ACh + Eserin	1	8	-	1	-	16	2	-	-	28
ACh + Eserin + Atropin	-	15	-	14	1	3	-	1	-	34

VII. LITERATUR

1. ADRIAN, E.D. und MATTHEWS, R. (1928) The action of light on the eye. Part III. The interaction of retinal neurones.
J. Physiol. (Lond.) 65, 273-298.
2. AMES, A. und POLLEN, D.A. (1969) Neurotransmission in central nervous tissue: A study of isolated rabbit retina.
J. Neurophysiol. 32, 424-442.
3. BAKER, P.C. und QUAY, W.B. (1969) 5-Hydroxytryptamine metabolism in early embryogenesis and the development of brain and retinal tissues.
Brain Res. 12, 273-295.
4. BARGMANN, W. (1967) Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
G. Thieme-Verlag, 6. Auflage.
5. BERTLER, A., FALCK, B. und OWMAN, C. (1966) The localisation of monoaminergic blood-brain barrier mechanisms.
Pharm. Rev. 18, 369-385.
6. BISHOP, P.O., BURKE, W. und DAVIS, R. (1962) The interpretation of the extracellular response of single lateral geniculate cells.
J. Physiol. (Lond.) 162, 451-472.
7. BISCOE, T.J. und STRAUGHAN, D.W. (1966) Microelectrophoretic studies of neurones in the cat hippocampus.
J. Physiol. (Lond.) 183, 341-359.
8. BOGDANSKI, D.F., SULSER, F. und BROODIE, B.B. (1961) Comparative action of reserpine, tetrabenazine and chlorpromazine on central parasympathetic activity.
J. Pharmac. exp. Ther. 132, 176.
9. BOYCOTT, B.B. und DOWLING, J.E. (1969) Organisation of the primate retina: light microscopy.
Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B. 255, 109-176.
10. BOYCOTT, B.B. und KOLB, H. (1973) The connections between bipolar cells and photoreceptors in the retina of the domestic cat.
J. Comp. Neurol. 148, 91-114.
11. BRADLEY, P.B. (1968) Synaptic transmission in the central nervous system and its relevance for drug action.
Int. Rev. Neurobiol. 11, 1-56.

12. BRADLEY, P.B. und WOLSTENCROFT, J.H. (1965) Actions of drugs on single neurones in the brain stem.
Brit. med. Bull. 21, 15-18.
13. BRADLEY, P.B., DHAWAN, B.N. und WOLSTENCROFT, J.H. (1966) Pharmacological properties of cholinceptive neurones in the medulla and pons of the cat.
J. Physiol. (Lond.) 183, 658-674.
14. BROWN, K.T. (1968) The electroretinogram: Its components and their origin.
Vision Res. 8, 633-677.
15. BROWN, J.E. und MAJOR, D. (1966) Cat retinal ganglion cell dendritic fields.
Exp. Neurol. 15, 70-78.
16. BROWN, K.T. und WIESEL, T.N. (1961) Analysis of the intra-retinal electroretinogram in the intact cat eye.
J. Physiol. (Lond.) 158, 229-256.
17. BRUGGENCATE, G., ten und ENGBERG, I. (1969) Effects of GABA and related amino acids on neurones in Deiters' nucleus.
Brain Res. 14, 533-536.
18. BURN, J.H. und RAND, M.J. (1965) Acetylcholine in adrenergic transmission.
Ann. Rev. Pharmacol. 5, 163-182.
19. CAJAL, S.R. (1892) La retine des vertebres. La Cellule 9. Deutsche Übersetzung: Greeff, R. (1894) Die Retina der Wirbeltiere.
Bergmann, Wiesbaden.
20. Carlsson, A., LINDQUIST, M. und MAGNUSSON, T. (1957) 3,4-Dihydroxyphenylalnine and 5-hydroxytryptophan as reserpin antagonists.
Nature 180, 1200.
21. CRAWFORD, J.M. und CURTIS, D.R. (1966) Pharmacological studies on feline Betz cells.
J. Physiol. (Lond.) 186, 121-138.
22. CREUTZFELDT, O. und SAKMANN, B. (1969) Neurophysiology of vision.
Ann. Rev. Physiol. 31, 499-544.
23. CREUTZFELDT, O., SAKMANN, B., SCHEICH, H. und KORN, A. (1970) Signal transfer in the retina.
J. Neurophysiol. 23, 654-671.

24. CURTIS, D.R. (1964) Microelectrophoresis.
In: Physical techniques in biological research.
Bd. V, Hsg. von Nastuk, pp. 144-190.
Academic Press, New York.
25. CURTIS, D.R. (1969) Central synaptic transmitters.
In: Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Hsg. von Jasper, pp. 105-129.
Little, Brown and Company, Boston.
26. CURTIS, D.R. und CRAWFORD, J.M. (1969) Central synaptic
transmission - microelectrophoretic studies.
Ann. Rev. Pharmacol. 9, 209-240.
27. CURTIS, D.R. und DAVIS, R. (1962) Pharmacological studies
upon neurones of the lateral geniculate nucleus of the
cat. Brit. J. Pharmacol. 18, 217-246.
28. CURTIS, D.R., DUGGAN, A.W., FELIX, D., JOHNSTON, G.A.R.
und McLENNAN, H. (1971) Antagonism between bicucullin
and GABA in the cat brain.
Brain Res. 33, 57-73.
29. CURTIS, D.R. und ECCLES, R.M. (1958) The excitation of
Renshaw cells by pharmacological agents applied
electrophoretically.
J. Physiol. (Lond.) 141, 435-445.
30. CURTIS, D.R., HÖSLI, L., JOHNSTON, G.A.R. und JOHNSTON,
J.H. (1968) The hyperpolarization of spinal moto-
neurones by glycine and related amino acids.
Exp. Brain Res. 5, 238-262.
31. CURTIS, D.R. und PHILLIS, J.W. (1960) The action of pro-
caine and atropine on spinal neurons.
J. Physiol. (Lond.) 153, 17-34.
32. CURTIS, D.R., PHILLIS, J.W. und WATKINS, J.C. (1960)
The chemical excitation of spinal neurones by cer-
tain acidic amino acids.
J. Physiol. (Lond.) 150, 656-682.
33. CURTIS, D.R. und RYALL, R.W. (1966a) The excitation of
Renshaw cells by cholinomimetics.
Exp. Brain Res. 2, 49-65.
34. CURTIS, D.R. und RYALL, R.W. (1966b) The acetylcholine
receptors of Renshaw cells.
Exp. Brain Res. 2, 66-80.
35. CURTIS, D.R. und WATKINS, J.C. (1965) The pharmacology
of amino acids related to γ -aminobutyric acid.
Pharmacol. Rev. 17, 347-391.

36. DAHLSTRÖM, A. (1969) Fluorescence histochemistry of monoamines in the CNS. In: Basic Mechanisms of the Epilepsies. Hsg. von Jasper, pp. 212-227. Little, Brown and Company, Boston.
37. Dale, H.H. (1914) The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. J. Pharmacol. 6, 147-190.
38. DEL CASTILLO, J. und KATZ, B. (1955) On the localization of acetylcholine receptors. J. Physiol. (Lond.) 128, 157-181.
39. DEL CASTILLO, J. und KATZ, B. (1957) A study of curare action with an electrical micromethod. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 146, 339-356.
40. DE ROBERTIS, E., RODRIGUEZ DE LORES ARNAIZ, G. und ALBERICI, M. (1969) Ultrastructural neurochemistry. In: Basic Mechanisms of the Epilepsies. Hsg. von Jasper, pp. 137-158. Little, Brown and Company, Boston.
41. DOWLING, J.E. und BOYCOTT, B.B. (1966) Organization of the primate retina: electron microscopy. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 166, 80-111.
42. DOWLING, J.E. und WERBLIN, F.S. (1969) Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus* - I. Synaptic structure. J. Neurophysiol. 32, 315-338.
43. DOWLING, J.E. und WERBLIN, F.S. (1971) Synaptic organization of the vertebrate retina. Vision Res. Suppl. 3, 1-15.
44. DUBIN, M.W. (1970) The inner plexiform layer of the vertebrate retina: a quantitative and comparative electron microscopic analysis. J. Comp. Neurol. 140, 479-506.
45. ECCLES, J.C. (1964) The physiology of synapses. Academic Press, New York.
46. EHINGER, B. (1966) Adrenergic retinal neurones. Z. Zellforsch. 71, 146-152.
47. EHINGER, B. (1970) Autoradiographic identification of rabbit retinal neurones that take up GABA. Experientia 26, 1063.

48. EHINGER, B. und FALCK, B. (1969) Morphological and pharmacohistochemical characteristics of adrenergic retinal neurons of some mammals.
Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm. 178, 295-305.
49. ELLIOTT, K.A.C. (1965) γ -aminobutyric acid and other inhibitory substances.
Brit. Med. Bull. 21, 70-75.
50. ENGBERG, I. und RYALL, R.W. (1966) The inhibitory action of noradrenaline and other monoamines on spinal neurones. J. Physiol. (Lond.) 185, 298-322.
51. ENROTH-CUGELL, C. und PINTO, L. (1970) Algebraic summation of center and surround inputs to retinal ganglion cells of the cat.
Nature 226, 458-459.
52. GALLEGO, A. (1965) Connexions transversales au niveau des conches plexiformes de la rétine.
Actualites Neurophysiologiques, 6^e Ser., 5-27, Paris.
53. GALLEGO, A. (1971) Horizontal and amacrine cells in the mammals retina.
Vision Res. Suppl. 3, 33-50.
54. GERSCHENFELD, H.M. und STEFANI, E. (1968) Evidence for an excitatory transmitter role of serotonin in molluscan central synapses.
In: Advance in Pharmacology, Bd. VI/A, Hsg. von Academic Press, New York.
55. GRAHAM, L.T., LOLLEY, R.N. und BAXTER, C.F. (1968) Effect of illumination upon levels of γ -aminobutyric acid and glutamic acid in frog retina in vivo.
Federation Proc. 27, 463.
56. GRAY, E.G. und GUILLERY, R.W. (1966) Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system.
Int. Rev. Cytol. 19, 111-182.
57. GRÜSSER, O.J. (1971) A quantitative analysis of spatial summation of excitation and inhibition within receptive field of retinal ganglion cells of cats.
Vision Res. Suppl. 3, 103-127.
58. GRÜSSER, O.J. und GRÜTZNER, A. (1958) Neurophysiologische Grundlagen der periodischen Nachbildphasen nach kurzen Lichtblitzen.
Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm. 160, 65-93.

59. GUTIERREZ, O.C. und SPIGUEL, R.D. (1971) Electroretino-graphic study of the effect of reserpine on the cat retina.
Vision Res. Suppl. 3, 161-170.
60. HÄGGENDAL, J. und MALMFORS, T. (1965) Identification and cellular localization of the catecholamines in the retina and choroid of the rabbit.
Acta Physiol. Scand. 64, 58-66.
61. HANSON, L.C.F. (1967) Evidence that the central action of (+)-amphetamine is mediated via catecholamines.
Psychopharmacologia 10, 289-297.
62. HEBB, C. (1970) CNS at the cellular level: Identity of transmitter agents.
Ann. Rev. Physiol. 32, 165-192.
63. HEISS, W.D. (1967) Daueraktivität retinaler Neurone unter Einwirkung von Strychnin und Pikrotoxin.
Vision Res. 7, 583-598.
64. HEISS, W.D., HEILIG, P. und HOYER, J. (1969) Die Wirkung von Psychopharmaka auf die Aktivität retinaler Neurone.
Vision Res. 9, 493-506.
65. HERZ, A. und FREYTAG-LORINGHOVEN, H., von (1968) Über die synaptische Erregung im Corpus Striatum und deren antagonistische Beeinflussung durch mikroelektrophoretisch verabfolgte Glutaminsäure und Gamma-Aminobuttersäure.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 299, 167-184.
66. HERZ, A., WICKELMAYER, M. und NACIMIENTO, A. (1965) Über die Herstellung von Mehrfachelektroden für die Mikroelektrophorese.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 284, 95-98.
67. HERZ, A. und ZIEGLGÄNSBERGER, W. (1968) The influence of microelectrophoretically applied biogenic amines, cholinomimetics and procaine on synaptic excitation in the corpus striatum.
Int. J. Neuropharmacol. 7, 221-230.
68. HERZ, A., ZIEGLGÄNSBERGER, W. und FÄRBER, G. (1969) Microelectrophoretic studies concerning the spread of glutamic acid and GABA in brain tissue.
Exp. Brain Res. 9, 221-235.
69. JUNG, R. (1964) Neuronale Grundlagen des Hell-Dunkel-Sehens und der Farbwahrnehmung.
Bericht der Ophthalm. Ges. LXVI, pp. 69-111.
Bergmann-Verlag, München.

70. KATZ, B. und THESLEFF, S. (1951) A study of the desensitisation produced by acetylcholine at the motor end-plate. *J. Physiol. (Lond.)* 138, 63-80.
71. KERKUT, G.A. und WALKER, R. (1961) The effects of drugs on the neurones of snail *Helix aspersa*. *Comp. Biochem. Physiol.* 3, 143-160.
72. KIDD, M. (1962) Electron microscopy of the inner plexiform layer of the retina in the cat and the pigeon. *J. anat. Rec. (Lond.)* 96, 179-188.
73. KISHIDA, K. und NAKA, K.I. (1967) Amino acids and the spikes from the retinal ganglion cells. *Science* 156, 648-650.
74. KISHIDA, K. und NAKA, K.I. (1968) Interaction of excitatory and depressant amino acids in the frog retina. *J. Neurochem.* 13, 833-842.
75. KOELLE, G.B. (1969) Pharmacology of synaptic transmitters. In: *Basic Mechanisms of the Epilepsies*. Hsg. von Jasper, pp. 195-211. Little, Brown and Company, Boston.
76. KRNJEVIC, K. (1964) Iontophoretic studies on cortical neurones. *Int. Rev. Neurobiol.* 7, 41-98.
77. KRNJEVIC, K. (1965) Actions of drugs on single neurones in the cerebral cortex. *Brit. med. Bull.* 21, 10-14.
78. KRNJEVIC, K., LAVERTY, R. und SHARMAN, D.E. (1963a) Iontophoretic release of adrenaline and 5-hydroxytryptamine from micropipettes. *Brit. J. Pharmacol.* 20, 491-496.
79. KRNJEVIC, K., MITCHELL, J.F. und SZERB, J.C. (1963b) Determination of iontophoretic release of acetylcholine from micropipettes. *J. Physiol. (Lond.)* 165, 421-436.
80. KRNJEVIC, K. und PHILLIS, J.W. (1963) Iontophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex. *J. Physiol. (Lond.)* 165, 274-304.
81. KRNJEVIC, K. und SCHWARTZ, S. (1967a) Some properties of unresponsive cells in the cerebral cortex. *Exp. Brain Res.* 3, 306-319.
82. KRNJEVIC, K. und SCHWARTZ, S. (1967b) The action of γ -aminobutyric acid on cortical neurones. *Exp. Brain Res.* 3, 320-336.

83. KUFFLER, S.W. (1953) Discharge patterns and functional organization of the mammalian retina.
J. Neurophysiol. 16, 37-68.
84. KURIYAMA, K.E., SISKEN, B., HABER, B. und ROBERTS, E.
(1968) The γ -aminobutyric acid system in rabbit retina.
Brain Res. 9, 165-168.
85. LEICESTER, J. und STONE, J. (1967) Ganglion, amacrine and horizontal cells of the cat's retina.
Vision Res. 7, 695-705.
86. MARLEY, E. und VANE, J.R. (1963) Tryptamine receptors in the central nervous system: effects of anaesthetics.
Nature 198, 441-444.
87. MATURANA, H.R. und FRENK, S. (1963) Directional movements and horizontal edge detectors in the pigeon retina.
Science 142, 977-979.
88. MILLER, R.F. und DOWLING, J.E. (1970) Intracellular responses of the Müller (glial) cells of mudpuppy retina: Their relation to b-wave of the electroretinogram.
J. Neurophysiol. 33, 323-341.
89. MISSOTTEN, L. (1965) The ultrastructure of the retina.
Brussels, Arscia Uitgaven, N.V.
90. MOURIZ-GARCIA, A., SCHMIDT, R. und ARLAZOROFF, A. (1969) Effects of LSD on the spontaneous and evoked activity of retinal and geniculate ganglion cells.
Psychopharmacologia (Berlin) 15, 382-391.
91. NASTUK, W.L. (1953) Membrane potential change at a single muscle end-plate produced by transitory application of acetylcholine with an electrically controlled microjet.
Federation Proc. 12, 102.
92. NICHOLS, C.W. und KOELLE, G.B. (1968) Comparison of the localization of acetylcholinesterase and non-specific cholinesterase activities in mammalian and avian retinas.
J. Comp. Neurol. 133, 1-16.
93. NOELL, W.K. und LASANSKY, A. (1959) Effects of electrophoretically applied drugs and electrical currents on the ganglion cell in the retina.
Federation Proc. 18, 115.
94. OBATA, K., ITO, M., OCHI, R. und SATO, N. (1967) Pharmacological properties of the postsynaptic inhibition by Purkinje cell axons and the action of γ -aminobutyric acid on Deiters neurones.
Exp. Brain Res. 4, 43-57.
95. PERWEIN, J. und STRASCHILL, M. (1974) in Vorb.

96. PHILLIS, J.W. und YORK, D.H. (1968) Pharmacological studies on a cholinergic inhibition in the cerebral cortex. *Brain Res.* 10, 297-306.
97. POLYAK, S. (1941) *The Retina.*
Chicago University Press, Chicago.
98. POLYAK, S. (1957) *The Vertebrate Visual System.*
Chicago University Press, Chicago.
99. ROBERTS, M.H.T. und STRAUGHAN, D.W. (1967) Excitation and depression of cortical neurones by 5-hydroxytryptamine. *J. Physiol. (Lond.)* 193, 269-294.
100. RODIECK, R.W. (1965) Quantitative analysis of cat retinal ganglion cell response to visual stimuli. *Vision Res.* 5, 583-601.
101. SALMOIRAGHI, G.C. und STEFANIS, C.N. (1967) A critique of iontophoretic studies of central nervous system neurones. *Int. Rev. Neurobiol.* 10, 1-30.
102. SATINSKY, D. (1967) Pharmacological responsiveness of lateral geniculate nucleus neurones. *Int. J. Neuropharmacol.* 6, 387-397.
103. SHKOLNIK-YARROS, E.G. (1971) Neurones of the cat's retina. *Vision Res.* 11, 7-26.
104. SPINELLI, D.N. und WEINGARTEN, M. (1966) Afferent and efferent activity in single units of the cat's optic nerve. *Exp. Neurol.* 15, 347-362.
105. STEINER, F.A. (1971) *Neurotransmitter und Neuromodulatoren.*
Thieme-Verlag, Stuttgart.
106. STERIADE, M. und IONESCU, D. (1967) Specific potentiation of photically evoked activity in the visual cortex. *Exp. Brain Res.* 4, 256-274.
107. STONE, J. und FREEMAN, R.B. (1971) Conduction velocity groups in the cat's optic nerve classified according of their retinal origin. *Exp. Brain Res.* 13, 489-497.
108. STRASCHILL, M. (1968) Action of drugs on single neurones in the cat's retina. *Vision Res.* 8, 35-47.
109. STRASCHILL, M. und PERWEIN, J. (1969) The inhibition of retinal ganglion cells by catecholamines and γ -aminobutyric acid. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* 312, 45-54.

110. STRASCHILL, M. und PERWEIN, J. (1971) Effect of iontophoretically applied biogenic amines and cholinomimetic substances upon the activity of neurones in the superior colliculus and mesencephalic reticular formation of the cat.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 324, 43-55.
111. STRASCHILL, M. und PERWEIN, J. (1973) The effect of iontophoretically applied acetylcholine upon the cat's retinal ganglion cells.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 339, 289-298.
112. WÄSSLE, H. und CREUTZFELDT, O.D. (1973) Spatial resolution in visual system: A theoretical and experimental study on single units in the cat's geniculate body.
J. Neurophysiol. 36, 13-27.
113. WEIGHT, F.F. und SALMOIRAGHI, G.C. (1966) Responses of spinal cord interneurons to acetylcholine, norepinephrine and serotonin administered by microelectrophoresis.
J. Pharmacol. exp. Therap. 153, 420-427.
114. WEIL-MALHERBE, H., AXELROD, H. und TOMCHICK, J. (1959) Bloodbrain barrier for adrenaline.
Science 129, 1226-1227.
115. WELSH, J.H. (1964) The quantitative distribution of 5-hydroxytryptamine in the nervous system, eyes and other organs of some vertebrates. In: Comparative Neurochemistry. (Proc. 5th Int. Neurochem. Symp., Austria) Pergamon Press, Oxford.
116. WERBLIN, F.S. und DOWLING, J.E. (1969) Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus* - II. Intracellular recording.
J. Neurophysiol. 32, 339-355.
117. WERMAN, R. (1966) A review - criteria for identification of a central nervous system transmitter.
Comp. Biochem. Physiol. 18, 745-766.
118. WHITTAKER, V.P. (1968) The subcellular distribution of amino acids in brain and its relation to a possible transmitter function of these compounds. In: Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanisms, Vol. 10. Hsg. von Euler, pp. 487, Pergamon Press, Oxford.
119. WIESEL, T.N. (1960) Receptive fields of ganglion cells in the cat's retina.
J. Physiol. (Lond.) 153, 583-594.
120. WITKOVSKY, P. (1971) Peripheral mechanisms of vision.
Ann. Rev. Physiol. 33, 257-280.

Herrn Prof. Dr. med. G. Peters danke ich für die Möglichkeit, in seinem Institut zu arbeiten.

Herrn Prof. Dr. med. O. Creutzfeldt gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und seine wertvolle Unterstützung durch Anleitung und Diskussion.

Herrn Dr. med. M. Straschill verdanke ich die Einführung in die Planung und Methodik von elektrophysiologischen Versuchen. Ihm danke ich auch für das ständige Interesse, das er am Fortgang meiner Arbeit genommen hat.

LEBENS LAUF

Am 23.7.1944 wurde ich als erstes Kind von Robert Perwein und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Fretter, in Stupperhof (Kreis Olpe) geboren.

Von 1950-1954 besuchte ich in München die Volksschule und von 1954-1963 das Maximilians-Gymnasium in München, wo ich 1963 das Abitur bestand.

Im WS 1963/64 begann ich mein Medizinstudium an der Universität München. 1966 bestand ich das Physikum und beendete 1970 mein Medizinstudium mit der ärztlichen Prüfung.

Bereits 1968 hatte ich im Max-Planck-Institut für Psychiatrie bei Herrn Prof. Dr. O. Creutzfeldt mit den Vorarbeiten für meine Dissertation begonnen; 1971 setzte ich dort meine Arbeit fort.

Nach Ableistung der internen (II. Medizinische Klinik der Universität München) und chirurgischen (Städtisches Krankenhaus München-Oberföhring) Medizinalassistentenzeit erlangte ich im September 1972 meine Approbation.

Danach arbeitete ich bis Februar 1973 im psychiatrischen Landeskrankenhaus Mainkofen.

Anschliessend war ich bis Oktober 1973 als Verwalter der Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten bei Herrn Prof. Dr. ten Bruggencate am Physiologischen Institut der Universität München tätig.

Am 1.10.1973 wurde ich zur Ableistung des Wehrdienstes einberufen und bin seitdem am Flugmedizinischen Institut Fürstentfeldbruck beschäftigt.

